

HECTOR HUIDOBRO

Pharmacien et Biochimiste
de l'Université de LA PLATA

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE

L'HISTAMINASE

*Influence de certains facteurs
physiologiques et pathologiques sur l'activité
histaminolytique du sang et des tissus*



PARIS

1952

HECTOR HUIDOBRO

Pharmacien et Biochimiste

de l'Université de LA PLATA

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE

L'HISTAMINASE

*Influence de certains facteurs
physiologiques et pathologiques sur l'activité
histaminolytique du sang et des tissus*



PARIS

1952

MEJOR HUBER
Pharmacien et Biologiste
de l'Université de la Plata

CONTRIBUTION A L'ETUDE

DE

L'HISTAMINE

Influence de certains facteurs
physiologiques et pathologiques sur l'activité
histaminolytique dans le sang et les tissus



PARIS
1952

PERSONNEL DE LA FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS.

Administration

M. René FABRE Doyen	M. DELABY Assesseur
M.G. CUVIER Secrétaire	
MM. L. JEANDEL Rédact. Princ.	M.E. BUVAT Commis
A. QUILLIOT Rédacteur	Mme M-L. ESPINASSE Commis
	Melle M. DENNY Commis

Professeurs

MM. FABRE	Toxicologie
DELABY	Pharmacie Chimique
PICON	Chimie Minérale
MASCRE	Botanique
FLEURY	Chimie Biologique
JANOT	Pharmacie Galénique
CHARONNAT	Chimie Organique
VALETTE	Zoologie appliquée
BEDEL	Législation, Déontologie et
	Histoire de la Pharmacie
PARIS	Histoire Naturelle des Médicaments
	simples d'origine végétale.
GUILLCT	Physique
GAUTHIER	Chimie Analytique
LAMBIN	Microbiologie
RAOUL	{ Professeurs sans chaire .
DOMANGE	
CRETE	
COURTOIS	

Doyen Honoraire M. RADAIS

Professeurs Honoraires

MM. DELEPINE et LEBEAU	Membres de l'Institut
MM BOUGAULT. HERISSEYR. LAUNOY . SOMMELET .	

Maîtres de Conférences .

MM. MORETTE	Sciences Physiques et Chimiques
CAVIER	Sciences naturelles
TRUHAUT	Sciences Physiques et Chimiques
MOREAU	Sciences Physiques et Chimiques
GUY	Sciences Physiques et Chimiques
N ...	Sciences Naturelles .

Chef des Travaux Pratiques .

MM CORRIEZ	Physique
HARISPE Travaux pratiques I ^{re} année	Chimie Générale et Pharmaceut
DEYSSON	Botanique
GERMAIN	Microbiologie
GIRARD	Chimie Biologique
MANGEDT	T.P. 4 ^{re} année
PIETTE	Biologie animale
RENAULT	Chimie Analytique

Institut de Pharmacotechnie et de
Pharmacodynamie .

MM. GOUTAREL	Pharmacotechnie Gálénique
QUEVAUVILLER	Pharmacodynamie
WAROLIN	Pharmatochenie Chimique.

Bibliothécaire en Chef M. GARNIER

Bibliothécaires : Melle LAVAUD
Mme KREHMER .

A Monsieur le Professeur Guillaume VALETTE

Chevalier de la Légion d'Honneur

Pharmacien-Chef des Hôpitaux

Nous faisons l'hommage de notre travail

C'est lui qui en a inspiré les
idées essentielles, et c'est
grâce à sa bienveillance et à
ses conseils quotidiens que nos
recherches ont pu être menées
à bien.

A Monsieur le Doyen René FABRE
Commandeur de la Légion d'Honneur
Membre de l'Académie de Médecine

Hommage reconnaissant et
très respectueux.

A Monsieur le Professeur Jean COURTOIS
Maître de Conférences

A Monsieur Raymond CAVIER
Maître de Conférences

En témoignage de notre gratitude.

A Monsieur André QUEVAUVILLER

Chef des Travaux Pratiques de l'Institut
de Pharmacodynamie

Nous le remercions de l'expérience
et de l'appui que nous avons tou-
jours trouvés en lui. Qu'il soit
assuré de notre reconnaissance
respectueuse.

A Mademoiselle Hélène MORIN

Assistante à l'Institut de Pharmacodynamie

Qui a tout fait pour faciliter
notre tâche. En témoignage de
notre profonde gratitude.

A Monsieur J. SAVEL

Assistant à la Chaire de Zoologie Appliquée

Qui a bien voulu nous donner ses
précieux conseils sur la présen-
tation de notre travail.

A Monsieur le DOYEN

A Messieurs les PROFESSEURS de l'UNIVERSITE NATIONALE
de LA PLATA

En témoignage de notre fidèle souvenir.

A U X M I E N S

TABLE DES MATIERES

=====

	<u>Page</u>
<u>INTRODUCTION</u>	
<u>CHAPITRE I</u>	
<u>ACTION PHYSIOLOGIQUE DE L'HISTAMINE</u>	3
<u>CHAPITRE II</u>	
<u>CARACTERISATION DE L'HISTAMINE</u>	
1 - Dosage de l'histamine	15
2 - Identification de l'histamine	19
<u>CHAPITRE III</u>	
<u>NATURE ET PROPRIETES DE L'HISTAMINASE</u>	
1 - Répartition	21
2 - Action sur l'histamine	22
3 - Spécificité	23
4 - Chimie de l'histaminase	24
5 - Cinétique de l'action de l'histaminase	26
<u>CHAPITRE IV</u>	
<u>HISTAMINASE DU SANG</u>	
1 - Répartition de l'histaminase dans les éléments du sang.	32
2 - Influence de la saignée sur le taux de l'histaminase sanguine	41
3 - Influence de l'administration d'histamine sur l'activité histaminasique	44
4 - Histaminase et grossesse	48
5 - Cortico-surrénalectomie et Histaminase	55

.....

CHAPITRE V

L'HISTAMINASE DANS DIVERSES MANIFESTATIONS

PATHOLOGIQUES

1 - Histaminase et allergie	67
2 - Eosinophilie et histaminase	73

<u>CONCLUSIONS</u>	76
--------------------	----

<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	80
----------------------	----

I N T R O D U C T I O N

=====

Parmi les problèmes soulevés par l'étude du métabolisme de l'histamine, l'un des plus intéressants à la fois du point de vue biochimique et du point de vue pathologique, concerne la nature des processus d'inactivation et de destruction de cette substance dans l'organisme.

Depuis les travaux de BEST et MAC HENRY (1930) on sait que l'histamine peut-être détruite in vivo par un enzyme appelé histaminase, présent dans le rein, le poumon et l'intestin grêle de la plupart des animaux. Cet enzyme a été identifié par ZELLER (1938) à une diaminoxidase; il s'attaque donc, en dehors de l'histamine, à d'autres substances telles que les diamines putrescine et cadaverine. Mais de tous ces substrats c'est sans conteste l'histamine qui présente la plus grande importance du point de vue physiologique. Sans doute ce processus d'inactivation de l'histamine n'est-il pas le seul auquel l'organisme a recours; la dégradation enzymatique de la totalité de l'histamine formée exigerait en effet, des taux d'histaminase beaucoup plus élevés que ceux que renferment les organes cités plus haut, et à côté de cette destruction oxydative, la fixation de l'histamine sur les protéines tissulaires intervient

certainement a un plus fort degré pour neutraliser les effets toxiques de cette substance.

Il n'était pas dans notre dessein de considérer l'importance relative de ces différents processus d'inactivation. Nous nous sommes limités dans ce travail à l'étude de l'histaminase, de sa détection, de sa répartition et de ses variations quantitatives dans certaines conditions physiologiques et pathologiques.

Dans la première partie de notre travail, nous rappellerons les principales données concernant la biochimie et la physiologie de chaque élément du couple histamine-histaminase.

Dans la deuxième partie nous exposerons les résultats de nos travaux personnels : détermination du pouvoir histaminolytique du sang des animaux et du sang humain dans diverses conditions, normales ou expérimentales; répartition de l'histaminase dans les éléments sanguins; mise en évidence des relations pouvant exister entre l'histaminase et le fonctionnement de certaines glandes endocrines, notamment la surrénale et l'hypophyse antérieure.

Enfin, nous avons cherché à préciser le rententissement que pouvaient avoir sur le taux sanguin de l'histaminase, la grossesse et diverses manifestations pathologiques, notamment l'asthme et les diverses affections allergiques.

Au cours de la réalisation de ce travail, nous avons trouvé en Monsieur le Professeur Guillaume VALETTE, Pharmacien Chef de l'Hopital Cochin, un maître patient et dévoué, qui n'a jamais cessé de nous prodiguer ses conseils compétents et judicieux.

Nous sommes heureux de pouvoir le remercier ici de la grande sollicitude dont il a toujours fait preuve à notre égard.

Nous exprimons aussi notre respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur J. COURTOIS et à Monsieur R. CAVIER, Maître des Conférences, qui ont bien voulu faire partie du Jury de cette thèse.

Nos remerciements les plus vifs vont également à Mademoiselle Hélène MORIN, Assistante à l'Institut de Pharmacodynamie de la Faculté de Pharmacie, et à Monsieur A. QUEVAUVILLER, Chef des Travaux de l'Institut de Pharmacodynamie de la Faculté de Pharmacie.

Leurs encouragements, leurs conseils, l'amitié qu'ils nous ont sans cesse prodiguée, resteront toujours présents dans notre mémoire.

CHAPITRE I

=====

ACTION PHYSIOLOGIQUE DE L'HISTAMINE (1)

Depuis les premières recherches de DALE et LAIDLAW (1910), les travaux sur l'activité pharmacologique de l'hi. se sont multipliés. Nous rappellerons ici les notions, désormais classiques, en envisageant successivement l'action de cette substance sur les fibres lisses, sur les sécrétions, sur le sang.

En règle générale, l'hi. fait contracter les fibres lisses, mais cette action varie suivant les organes et l'espèce animale sur laquelle on opère.

L'hi. est hypotensive chez les Carnivores et hypertensive chez les Herbivores. On donne à ces phénomènes le nom de "paradoxe de l'hi."

Chez les Carnivores, l'hypotension histaminique est importante pour des doses de 0,5 à 4 μ g par kg. Chez le chat, qui est un des animaux le plus sensibles à l'histamine, ce test a été choisi pour les premières expériences de DALE en 1910. Par contre, le lapin réagit régulièrement par de l'hypertension (HOSOYA 1931)

(1) L'histamine est désignée, au cours de la présente étude, par l'appellation abrégée "hi", et la diaminoxydase histaminase par "hase."

à condition, toutefois, d'utiliser l'ether comme agent anesthésique.

La chute de pression constatée chez les Carnivores est rapportée au fait que l'hi dilate les capillaires, cependant qu'elle contracte veines et artérioles, ce qui entrave le retour du sang au coeur. On a pu comparé ce mode d'action à une "saignée interne". Ce phénomène est d'autant plus sensible que l'hi. exerce également une action particulière sur l'équilibre hydrostatique. Elle accroît en effet la perméabilité des capillaires ce qui déclanche une fuite plasmatique vers le tissu lacunaire, et une hémococoncentration.

L'hi. fait se contracter les organes à muscles lisses in situ et isolés. Cette action est particulièrement nette, suivant l'espèce animale à laquelle on s'adresse, sur l'intestin, l'utérus, les muscles bronchiques.

Sur le tube digestif l'hi. provoque la contraction de l'estomac, de l'intestin grêle, et du gros intestin, ce qui peut occasionner vomissements et diarrhée.

L'action contracturante s'exerce d'une façon particulièrement sensible et selective sur l'iléon isolé du cobaye. C'est le test devenu classique depuis les expériences de BARSOUM et GADDUM, et le plus utilisé actuellement.

Sur l'utérus, l'hi. exerce également une action contracturante, que l'organe soit gravide ou non, et, à l'exception du rat, toutes les espèces animales réagissent positivement. La corne utérine du cobaye vierge a d'ailleurs été utilisée comme réactif biologique de l'hi. (DALE et LAIDLAW), encore que ce test manque de spécificité.

L'hi. contracte intensément les muscles bronchiques. Cette contraction se produirait par l'intermédiaire d'un relais parasympathique, car l'hi. n'a aucune action sur la fibre bronchique isolée (FELDBERG et SHILD 1930). Le déclenchement de ce broncho-spasme histaminique est lui aussi, utilisé en pharmacodynamie, soit in vitro sur le poumon du cobaye isolé, soit in vivo sur le cobaye soumis à un aérosol d'hi.

L'hi. possède une action excito-sécrétoire sur les glandes en général; c'est ainsi qu'elle déclenche une hypersecrétion des glandes lacrymales, salivaires, gastriques, biliaires, pancréatiques, intestinales; il faut noter cependant, qu'elle n'a aucune action sur les sécrétions lactée et sudorale. L'augmentation particulièrement nette de la sécrétion gastrique a été choisie comme test par UNGAR (1937). Cette action est périphérique car elle est décelable sur des fragments d'estomac énérvé. On l'observe chez tous les Vertébrés (KEETON, KOCH, et LUCKARDT 1920).

Sur l'intestin, l'hi. provoque l'écoulement d'un liquide de composition analogue à celui qui apparaît après énérvation d'une anse intestinale. La cause initiale de la formation de ce liquide paraît être la vaso-dilatation qui se produit, aussi bien pour l'injection de cette substance, que par la section des filets nerveux de mésentère (VALETTE et CAVIER 1949).

Sur la medullo-surrénale, l'hi. provoque une sécrétion d'adrénaline. On peut d'ailleurs attribuer à

cette adrénalino-sécrétion, quelques-uns des effets dits histaminiques.

Sur le sang, l'hi. entraîne des modifications du taux des éléments figurés et des constantes biochimiques.

Dès leurs premières recherches DALE et LAIDLAW ont observé, sous l'influence d'une injection d'hi. une leucopénie, intéressant plus particulièrement les polynucléaires.

On a constaté également une augmentation souvent considérable des plaquettes, à tel point qu'on a attribué certains accidents histaminiques à la production d'embolies plaquettaires.

La coagulabilité sanguine est également touchée; on note en effet, au cours du choc histaminique, un temps de saignement légèrement augmenté (vraisemblablement dû à la vasodilatation périphérique), et un temps de coagulation diminué.

L'administration d'hi. entraîne en général les modifications biochimiques suivantes : hyperglycémie (LABARRE 1926) atteignant 2 à 3 fois le taux normal, et probablement due à la libération d'adrénaline ; augmentation de la réserve alcaline (BIGWOOD 1924), et hypercholestérolémie (FIESSINGER, GAJDOS et PANAYOTOPOULOS 1939). Il apparaît également de l'hyperkaliémie, de l'hyperphosphorémie et de l'hypoprotidémie.

HI. ET ANAPHYLAXIE .-

Un dernier aspect de la physiopathologie de l'hi. mérite d'être examinée, à savoir les relations existants

entre l'hi. et l'anaphylaxie.

Dès 1910, DALE et LAIDLAW signalent l'analogie des troubles observés au cours de l'intoxication histaminique et au cours du choc anaphylactique.

En 1925, MANWARING établit qu'au cours des accidents anaphylactiques il y a libération d'hi. dans les humeurs. La similitude fut encore renforcée quand ROVET et STAUB (1937) découvrirent des substances antagonistes de l'hi. et susceptibles de protéger également les animaux contre les manifestations anaphylactiques.

PARROT, dans sa thèse, rapporte l'observation d'accidents allergiques survenus chez des sujets prédisposés, à la suite d'administration de doses d'hi. supportées sans dommage par des sujets sains. D'autre part, le même auteur a constaté, au cours des manifestations anaphylactiques, une augmentation de l'histaminémie et de l'histaminurie.

Cependant, l'unanimité ne s'est pas faite sur cette assimilation du choc anaphylactique au choc histaminique.

DRAGSTEDT, MEAD, et EYER (1938) notent la ressemblance entre le choc anaphylactique et le choc peptonique; ressemblance beaucoup plus accusée qu'entre le choc anaphylactique et le choc histaminique. Chez le chien par exemple, le foie augmente de volume, le flux lymphatique s'amplifie dans des proportions beaucoup plus considérables au cours du choc anaphylactique que dans le cas du choc histaminique.

PARROT pour expliquer cette dissemblance, invoque plusieurs arguments : dans l'anaphylaxie l'hi. au niveau de certains organes peut exercer sur place des effets considérables, en raison d'une forte concentration locale. D'autre part, d'autres substances que l'hi. sont sans doute libérées dans le choc anaplylactique. Enfin il faut distinguer dans le choc anaphylactique, deux étapes : la première est marquée par une libération d'hi, la seconde est l'affaire des réactions antigène- anticorps, où l'hi. n'intervient pas.

C H A P I T R E II

=====

CARACTERISATION DE L'HISTAMINE

La détermination de l'activité histaminasique des différents tissus de l'organisme nécessite, au préalable, l'identification et le dosage de l'hi.

Nos premières recherches ont donc, été consacrées au problème de l'extraction et de l'identification de l'hi, dans les divers milieux biologiques.

En effet, les conditions d'extraction demandent à être précisées soigneusement puisque, d'une part, l'hi. contracte avec les protéines des liaisons, dont il faut la libérer, et d'autre part, il existe dans les organes normaux des substances susceptibles d'exciter ou d'inhiber la musculature lisse, et pouvant par suite interférer avec l'hi. et produire des erreurs dans nos dosages.

C'est là sans doute, qu'il faut voir la cause des résultats contradictoires que nous avons relevés dans la littérature.

La choline, l'acetylcholine, la callicréine, par exemple, exercent in vivo et in vitro des actions très voisines de celles qu'exerce l'hi.

D'autres substances au contraire telles que l'adénosine, l'adrenaline, l'histidine, sont inhibitrices de

la musculature lisse et susceptibles en conséquence d'entraver l'effet de l'hi. sur l'iléon de cobaye.

Il est à noter que la concentration en potassium des milieux sur lesquels nous opérons n'est pas suffisant pour influencer la préparation intestinale.

La première méthode préconisée pour extraire l'hi. du sang ou des milieux biologiques a été introduite par BARSOUM et GADDUM en 1935. Elle a subi depuis des modifications, en particulier à la suite des travaux de CODE (1937).

Dans le cas du sang, le principe de la méthode généralement utilisé est le suivant :

Après précipitation des protéines par l'acide trichloracétique, on chauffe avec de l'acide chlorhydrique concentré. Ce traitement laisse inaltérée l'hi. tout en détruisant les autres principes susceptibles de troubler le dosage. Le mélange est ensuite évaporé à sec en présence d'alcool, de manière à éliminer l'excès d'acides. Le résidu est alors repris par de l'eau distillée et amené à pH convenable (7,4).

La modification introduite par CODE consiste dans le remplacement de l'extraction alcoolique proposée par BARSOUM et GADDUM, par une extraction aqueuse. Nous allons exposer cette technique en détail :

Recueillir 5 cm³ de sang sur 8 cm³ d'acide trichloracétique 10 %. Agiter.

Une heure après, filtrer sur BUCHNER, laver le précipité avec soin au moyen de 4 fois 2 cm³ d'acide trichloracé-

tique 10%.

L'hi. passe dans le filtrat. Ajouter 5cm^3 d'acide chlorhydrique concentré, et porter le tout à ébullition douce pendant 1 heure 30, en complétant, au besoin avec un peu d'eau distillée. Laisser réduire à la fin à 3cm^3 environ. A ces 3cm^3 ajouter 5cm^3 d'alcool; le tout est mis dans une capsule et placé au bain marie bouillant. Laisser évaporer à siccité et répéter cette opération 3 fois. La plus grande partie de l'acide chlorhydrique restant est éliminée.

Le résidu est alors repris par 2 cm^3 d'eau distillée, neutralisé avec quelques gouttes d'hydroxyde de sodium N/5. La neutralisation est obtenue en employant le bleu de bromothymol au début, et le bleu de thymol ensuite, en se servant comme témoin d'une goutte de Tyrode additionnée d'une goutte de réactif.

La neutralisation obtenue, on complète au volume initial avec de l'eau distillée.

On sait que dans la méthode classique de déprotéinisation par l'acide trichloracétique, suivie d'un traitement par l'acide sulfurique ou chlorhydrique, l'élimination de ces deux acides exige beaucoup de temps et de grandes précautions. En effet, la déprotéinisation trichloracétique peut décarboxyler l'histidine contenue dans le sang et les tissus, et l'hi. ainsi formée introduit dans les dosages une erreur par excès.

ÅKERBOM (1941) estime que 10 mg d'histidine libre dans ces conditions $0,1\mu\text{g}$ d'hi.

Plus récemment encore HUGUES, SALVIN et WOOD (1951) constatent que le traitement trichloracétique des tissus tels que les muscles squelettiques, donne lieu à une très importante formation d'hi. qui trouverait son origine dans la dégradation de la carnosine musculaire.

Pour ces raisons on a cherché à mettre en oeuvre des techniques simplifiées, évitant le traitement acide préliminaire. Ainsi ANREP, BARSOUM et IBRAHIM (1947) proposent une méthode applicable à la détermination de l'hi. dans le sérum. Ils éliminent les substances parasites par chauffage à 80° C. pendant 3 minutes du sérum dilué dans 5 parties de liquide de Tyrode.

C'est de cette méthode que se sont inspirés JIMENEZ DIAZ, ARJONA et PERIANES (1948); la technique qu'ils proposent a l'avantage de pouvoir être appliquée non seulement au sérum, mais aussi au sang total et aux autres tissus. Ces auteurs chauffent pendant 5 minutes au bain-marie bouillant le sang convenablement dilué, où les tissus broyés avec du sable. Comme nous l'avons constaté, ce traitement n'inactive pas l'hi.

La technique de cette méthode est la suivante:

On introduit dans un tube à essai :

1 cm³ de sang citraté

9 cm³ de liquide Tyrode

On agite légèrement et l'on porte immédiatement au bain-marie bouillant en continuant l'agitation.

On maintient l'ébullition pendant 5 minutes.

Les protéines sont coagulées.

On refroidit et on filtre sur BÜCHNER. On ajuste à pH 7,4 en présence de bleu de bromothymol.

On lave le précipité sur le filtre avec une quantité suffisante de liquide de Tyrode pour compléter à 10cm^3 . On obtient ainsi une dilution au dixième de sang total, qui servira à l'essai biologique sur l'ileon de cobaye.

Nous avons constaté que les solutions extractives ainsi obtenues peuvent être conservées avant le dosage deux ou trois jours à 4°C . sans perte d'activité. Nous allons rapporter ici les résultats d'une série d'expériences destinées à préciser le rendement des principales méthodes décrites, comparées à celle de la méthode de CODE.

Nous avons utilisé du sang de cobaye ou du sang humain, qui sont à peu près dépourvus d'hi. et doués d'un pouvoir histaminolytique faible.

Nous avons ajouté au sang des quantités d'hi. de $0,5\text{ }\mu\text{g}$ par cm^3 , et nous avons successivement appliqué à ces échantillons les 3 méthodes d'extraction.

Nos résultats sont groupés dans le tableau n°I.

TABLeau I

Taux d'extraction par trois méthodes différentes
de 0,5 µg d'hi. ajoutés à 1cm³ de sang.

Origine du sang	CODE	J. DIAZ	ANREP (Plasma)
Cobaye	0,5	0,5	0,5
"	0,2	0,5	0,5
"	0,3	0,4	0,5
"	0,5	0,45	0,42
Humain	0,33	0,5	0,45
"	0,4	0,33	0,5
"	0,5	0,4	0,5
"	0,36	0,5	0,5

De ces résultats nous pouvons conclure que la méthode DIAZ, tout en étant plus rapide, garde une précision égale à celle de BARSOUM et GADDUM modifiée par CODE.

Sa rapidité nous a permis de faire de nombreux dosages qui auraient demandé beaucoup de temps par la technique de CODE.

D'autre part, la nature et le nombre des opérations prescrites par la technique de CODE pour éliminer les acides trichloracétique et chlorhydrique, ne pouvant qu'amener des erreurs par défaut dans le résultat final.

Cependant, quand il s'agira de doser l'hi. dans des milieux autres que le sang et les tissus frais, nous avons toujours utilisé la technique classique de CODE, qui permet un isolement plus strict de l'hi.

DOSAGE DE L'HISTAMINE

=====

L'hi. est une amine biologiquement très active, et en dépit des faibles quantités que renferment l'organisme il est possible de la doser dans le sang et les tissus avec une précision satisfaisante.

Les méthodes chimiques de dosage ne peuvent être utilisées que lorsqu'on s'adresse à de fortes concentrations de cette substance en solution pure. La plus connue de cette méthode est fondée sur la coloration rouge obtenue en copulant l'hi. avec le diazo-sulfanilate de sodium. C'est la réaction de PAULY, que certains auteurs ont utilisé. (THOMAS 1920, SCHWARTZ et RIEGERT 1936). Remarquons toutefois que cette méthode, étant donné son manque de spécificité, n'est que très rarement employée.

C'est pourquoi le procédé de choix pour doser l'hi. dans des milieux aussi complexes que le sont les humeurs de l'organisme reste-t-il la méthode biologique.

Cette méthode est fondée sur l'appréciation de l'effet pharmacologique produit par l'hi. sur différents organes, et plus particulièrement sur la motilité intestinale.

En 1916 GUGGENHEIM et LOFFLER ont décrit une technique universellement pratiquée aujourd'hui, et fondée sur la contraction de l'ileon de cobaye in vitro.

La technique que nous avons utilisé au cours de nos travaux est la suivante :

Nous avons travaillé sur des cobayes de 300 à 400g. soumis à un régime défini (avoine, son, choux, carottes, eau). Aussitôt l'animal sacrifié, nous faisons une laparotomie médiane et prélevons un fragment d'iléon d'un cm. et demi environ, que nous débarrassons soigneusement des débris de mésentère et de son contenu par lavage à la seringue.

L'organe est disposé dans une cuve de 10 cm³ de volume, et maintenu en survie dans une solution de Tyrode convenablement aérée et à la température de 35° C.

La formule de la solution de Tyrode que nous avons utilisée est la suivante :

Chlorure de sodium	8 g
Chlorure de potassium	0,2 g
Chlorure de Calcium crist.	0,2 g
Chlorure de Magnesium	0,1 g
Glucose	1g
Bicarbonate de sodium	1g
Eau distillée C.S.P.	1.000 cm ³

D'autre part, cette solution est additionnée d'une dose de 0,5 mg par litre, de sulfate d'atropine, pour neutraliser les effets éventuels de l'acétylcholine.

A la température anormalement basse à laquelle nous avons travaillé, l'intestin présente peu de contractions spontanées, et la sensibilité se trouve accrue.

Le dispositif d'inscription est constitué par un myographe dont le style mesure environ 20 cm de longueur,

le rapport des deux bras de levier étant de 20. La tension exercée sur l'organe est à peu près de 0,4 g.

Une fois ce dispositif en place nous attendons 15 minutes environ pour voir se réaliser la stabilisation du tonus.

Tout d'abord nous sensibilisons le fragment d'organe en ajoutant au bain 1 μg d'hi., que nous laissons agir pendant vingt secondes, au bout desquelles nous lavons à trois reprises avec de la solution de Tyrode.

La sensibilité atteinte est, en général, de 0,001 à 0,002 μg . par cm^3 de bain, soit 0,01 à 0,02 μg pour la cuve de 10 cm^3 dans laquelle nous opérons.

Avant tout titrage il faut s'assurer, d'une part, que les effets produits par une même dose plusieurs fois répétées soient constantes, et que d'autre part, les doses différentes à effet submaximal produisent des effets différents.

Nous laissons s'écouler deux minutes entre chaque détermination. Pour obtenir dans une même série de dosages des résultats comparables, il faut maintenir constant certains facteurs, et en particulier, l'intervale compris entre deux enregistrements successifs, sans parler de la composition de la solution de Tyrode, de la température, et de la tension exercée sur l'intestin.

Quant à l'animal, le choix du sexe ne paraît pas influer beaucoup sur la sensibilité de l'ileon, mais le

poids le plus favorable semble se situer entre 300 et 400g. Nous avons remarqué également que l'état de vacuité de l'intestin avait quelque influence. Les ileons trouvés pleins lors du prélèvement se sont montrés moins sensibles et ont survécu moins longtemps.

La détermination du taux de l'hi. dans un liquide biologique doit toujours se faire par comparaison avec une solution étalon de bichlorhydrate d'hi. à 0,5 µg par cm³ de liquide Tyrode. On inscrit tout d'abord une série de contractions correspondant à différentes doses de la solution étalon. On détermine ensuite par tâtonnements, le volume de la solution à doser qui donne une contraction située dans les limites de l'échelle des contractions obtenues en premier lieu. On fait alors agir de nouveau le volume de solution étalon qui avait donné la contraction d'amplitude comparable à celle qu'avait fournie la solution à l'essai.

Si la concentration en hi. de la solution à titrer est trop élevée, il faut évidemment la diluer dans des proportions telles qu'elle se trouve ramenée au dessous d'un microgramme par cm³.

Pour exprimer la quantité de microgramme d'hi. contenus dans 1 cm³ d'une solution X, nous avons d'abord utilisé une formule donnée par ALHMARK (1944). Ce calcul se fait par interpolation, connaissant la hauteur en millimètres, aussi voisine que possible, des contractions fournies, d'une part par une quantité connue de la solution X, d'autre part par des quantités connues de la solution étalon.

Un exemple illustrera la manière de procéder:

- 0,05 μ g d'hi. donne une hauteur de contraction de 34 millimètres
- 0,15 cm^3 de la solution X donne une contraction de 37 millimètres
- 0,07 μ g d'hi. donne une contraction de 45 millimètres

On en déduit que la quantité d'hi. contenue dans 0,15 cm^3 de solution X est de :

$$0,05 + \frac{(37 - 34)(0,07 - 0,05)}{45 - 34} = 0,0555$$

soit dans 1 cm^3 de solution X : 0,37 μ g d'hi.

Ce calcul repose sur le postulat que l'effet est proportionnel à la dose, or on sait qu'en réalité, les effets sont proportionnels aux logarithmes des doses. On peut admettre cependant, que pour des effets très voisins, l'erreur commise en adoptant ce calcul est assez négligeable.

Par la suite, nous avons cru préférable d'encadrer la contraction donnée par la solution X, par deux contractions d'égale amplitude fournies par des quantités connues de la solution d'hi. étalon.

IDENTIFICATION DE L'HISTAMINE

Avant le grand développement pris par les antihistaminiques de synthèse, GADDUM avait déjà proposé un procédé d'identification de l'hi. dans les milieux biologiques consistant à saturer le fragment d'intestin par une forte dose d'hi.; les additions ultérieures de cette substance devenant par la suite inefficaces,

alors que la réactivité de l'organe à d'autres substances est conservée.

L'emploi des antihistaminiques de synthèse peut être également mis à profit pour la caractérisation de l'hi. Si l'activité d'un extrait biologique sur l'iléon de cobaye disparaît en présence d'un antihistaminique de synthèse tel que le Néo-Antergan, on peut affirmer qu'il s'agit de l'hi.

Pour être certain de l'efficacité de la méthode nous avons fait les expériences suivantes :

1°) Le corps dosé est inhibé par le Néo-Antergan in vitro : on ajoute au bain $0,25 \text{ cm}^3$ d'une solution de cet antihistaminique à $0,2 \text{ } \mu\text{g}$ par cm^3 . On laisse en contact une minute, puis on ajoute une quantité d'extrait équivalente à $1 \text{ } \mu\text{g}$ d'hi. L'iléon qui réagissait auparavant à des doses d'hi, dix fois plus faibles ne répond plus désormais. Il faut pour observer une contraction ajouter au moins $10 \text{ } \mu\text{g}$ d'hi.

Avant de procéder à un nouvel essai, nous nous assurons que l'organe, après lavages successifs, a récupéré sa sensibilité antérieure vis à vis de l'hi. Cependant, il devient impossible parfois, de rendre à l'intestin sa sensibilité normale à l'hi, malgré les lavages répétés.

2°) L'hi, est stable même à l'ébullition en présence d'acide chlorhydrique concentré.

3°) L'atropine n'altère pas l'action pharmacologique de l'hi. Par contre, elle permet de distinguer cette action de celle de l'acétylcholine.

4°) La forme de la courbe obtenue par action de l'hi. sur l'iléon de cobaye est caractéristique de cette substance.

Dans la série de courbes ci-dessous nous représentons graphiquement la sensibilité et la précision que nous obtenons habituellement dans la détermination de doses croissantes d'hi.:



CHAPITRE III

=====

NATURE ET PROPRIETES DE L'HISTAMINASE

La présence dans l'organisme normal d'un principe ayant le pouvoir d'inactiver l'hi., est connu depuis 1915. EUSTIS montra en effet, à cette époque, qu'une solution d'hi. perd son activité quand on la met en contact avec l'extrait du foie d'un vautour commun dans le Sud des Etats-Unis (Charthates Aura).

Cet auteur penche en faveur de la nature enzymatique de ce facteur d'inactivation, tenant compte du fait qu'il disparaît par chauffage à l'ébullition.

Il faut ensuite attendre 1929 pour voir la confirmation de cette notion, dans les travaux de BEST et MAC HENRY. Ces auteurs désignent sous le nom d'histaminase, l'enzyme en question, auquel ils attribuent un rôle important dans les processus physiologiques et pathologiques.

REPARTITION.-

L'hase. est très répandue dans le règne végétal. C'est ainsi qu'on en trouve chez les bactéries (pseudomonas aeruginosa), chez les végétaux supérieurs (atropa belladonna), chez les Reptiles, les Oiseaux, et les Mammifères.

Chez ces derniers cependant, la répartition de

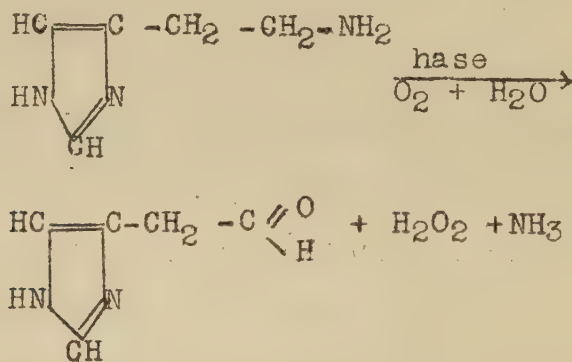
l'enzyme varie avec l'espèce, et les différents organes se montrent inégalement riches en hase.

Le rein, la muqueuse intestinale et à un plus faible degré le foie et les poumons, se montrent en général doués d'action histaminasique. Il faut noter aussi l'activité enzymatique, parfois considérable, du placenta, des glandes mammaires, de la prostate, et du sperme.

Il y a néanmoins des exceptions, par exemple le rein du rat ne possède que des traces d'hase.

ACTION CHIMIQUE SUR L'HISTAMINE

L'hase, agit sur l'hi. par une désamination oxydative, qu'on peut représenter de la manière suivante :



Il y a donc production d'aldéhyde et d'eau oxygénée, que la catalase décompose dans un second temps (STEPHENSON 1943).

Quand on compare la formule des différents composés susceptibles d'être attaqués par l'hase., on remarque que le groupement commun à ces diverses molécules, consiste en une chaîne aliphatique latérale, et à un groupe aminé libre. On peut alors penser que c'est là que se porte l'action enzymatique, et, si dans le cas de l'hi. le noyau imidazole est en fin de compte brisé, c'est là le fait d'autres systèmes enzymatiques.

SPECIFICITE

Les diamines aliphatiques de structure $\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$, sont attaquées par l'hase. Toutefois, la vitesse d'attaque augmente de $n = 2$ à $n=5$, et décroît pour une plus haute condensation en carbone. A partir de C_{14} et au delà, on ne note plus aucune dégradation, celle-ci étant assurée par la monoaminoxydase.

Les arguments qui ont permis d'établir l'assimilation de l'hase. à la diaminoxydase, reposent sur quatre ordres de faits :

1°) Dans tous les organismes, la destruction oxydative de l'hi. et des diamines simples s'opère parallèlement; ainsi, dans la grossesse, le pouvoir histaminolytique envers l'hi. et la cadavérine apparaît en même temps (ZELLER 1940).

2°) Les inhibiteurs de l'hase. tels les réactifs du groupement carbonyle, influencent les deux réactions dans le même sens.

3°) Les préparations d'hase. les mieux purifiées, exercent sur l'hi. et les diamines des actions comparables.

4°) Enfin, les résultats les plus convaincants ont été obtenus dans les expériences qui ont consisté à mettre en compétition l'hi. et les diamines, qui se protègent mutuellement de l'action destructrice de l'enzyme.

CHIMIE de L'HISTAMINASE

La constitution chimique de cet enzyme a été étudiée en déterminant l'action activatrice ou inhibitrice qu'exercent différents composés. L'hase. se comporte comme une protéine de poids moléculaire assez élevé; en effet la digestion pepsique ou tryptique supprime toute activité (ZELLER 1938).

D'autre part, la dialyse, même prolongée pendant deux semaines, respecte le pouvoir diastasique (AHLMARK 1944).

De plus, le cyanure de potassium inhibe complètement l'hase. contenue dans un extrait de rein de porc à la concentration de 5×10^{-4} (BEST et MAC HENRY 1930). Ce fait laisse prévoir la présence d'un métal lourd dans la constitution de l'enzyme.

En 1937 ZELLER et EDELBACHER démontrent que l'activité enzymatique s'arrête au contact d'une atmosphère contenant 40% d'anhydride carbonique ; ce fait a conduit les auteurs à attribuer à l'hase. la structure d'une hémine.

Au contraire, SWEDIN (1943) en s'appuyant sur des expériences de cataphorèse établit un parallélisme entre l'action enzymatique et la teneur en groupements flaviniques.

Cependant pour GRANDJEAN (1949) l'hase. serait une combinaison de deux substances ou plus, de nature non protéique, car elle conserve son pouvoir enzymatique après l'ultra-filtration. Il s'agirait donc d'une d'une combinaison de l'hase. avec la surface protéique. Cette hase se retrouverait libre dans l'ultrafiltrat.

Il existe enfin, deux groupes d'inhibiteurs appartenant à la chimie organique. Le premier comprend des amines, et surtout des diamines (Thiamine, piperazine, diguanidine, BLASCHKO 1938) Leur mode d'action est maintenant élucidé : ces produits agissent par compétition, en subissant l'activité de l'enzyme à la place de l'hi.

On a noté dernièrement l'activité inhibitrice de la streptomycine due sans doute, au groupement streptidine.

Le second groupe d'inhibiteurs organiques rassemble les composés qui ont pour caractère commun d'être des réactifs du groupement carbonyle : on y trouve les sulfites, la diméthylcyclohexanedione , la semicarbazide, l'hydroxylamine et la phenylhydrazine (WERLE 1940, DA ROCHA E SILVA 1943)

En ce qui concerne la nomenclature, selon KAPPELLER-ADLER 1949, il serait plus judicieux de retenir, pour l'enzyme le nom d'histaminase plutôt que celui de diaminoxydase introduit par ZELLER en 1938. En effet, l'enzyme possède une affinité plus considérable vis à vis de l'hi. que vis à vis des autres diamines (cadavérine, putrescine et agmatine). D'autre part son comportement à la dialyse est caractéristique d'une flavoprotéine, à l'avantage de l'hi. sur les autres diamines.

CINETIQUE DE L'HISTAMINASE

Les premiers travaux relatifs à la détermination de l'activité de l'hase. sanguine ont montré qu'il était possible d'exprimer quantitativement le pouvoir histaminologique, en prenant comme substrat une dose convenable et connue d'hi.

L'inactivation progresse en fonction du temps et il est possible de la suivre par des titrages biologiques. Cependant, aucune des premières méthodes publiées ne nous a semblé apporter une estimation exacte de l'effet histaminolytique. En effet les premiers auteurs mettaient en jeu des quantités très importantes d'hi. en regard desquelles les quantités détruites étaient négligeables.

De plus l'imperfection des méthodes d'extraction pouvait introduire des erreurs notables dans les résultats du titrage.

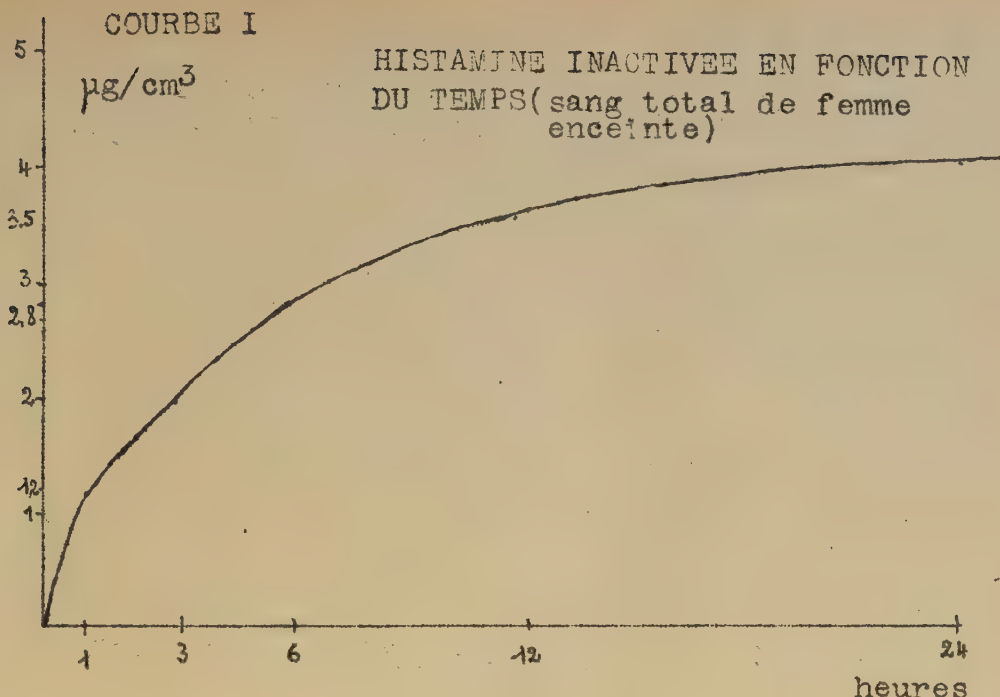
Nous nous sommes donc fondés uniquement sur les travaux postérieurs à la publication de BARSOUM et GADDUM (1935).

L'hi. mise en contact avec des tissus ou des liquides biologiques, en particulier le sang, est inactivée selon un rythme qui décroît rapidement en fonction du temps, comme le montrent les chiffres du tableau n°2 et de la figure n° I.

TABLEAU . . . 2

HISTAMINE INACTIVEE EN FONCTION DU TEMPS(sang total de femme enceinte)

Heures	1	3	6	12	24
Hase ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	1.2	2	2.8	3.5	4



La destruction de l'hi. par l'hase. peut être estimée de deux façons différentes :

- soit en laissant agir l'enzyme sur l'hi. assez longtemps pour que l'action enzymatique arrive au maximum,

- soit en arrêtant l'histaminolyse au bout d'un certain temps fixé arbitrairement.

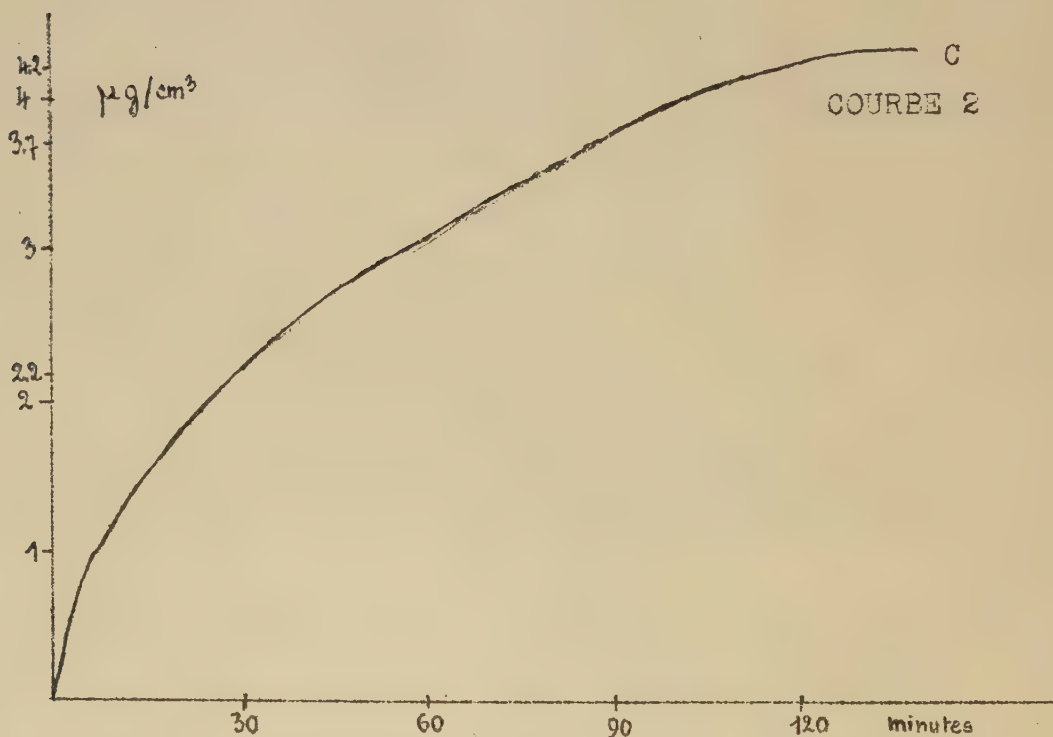
La première méthode a été le plus souvent utilisée, et les résultats sont exprimés en pourcentage d'hi. détruite au bout de 24 heures, temps que l'on estime suffisant pour une action diastasique maximum.

Nos déterminations du pouvoir histaminolytique sont fondées sur la deuxième méthode; nous avons effectué des dosages d'hi. à des intervalles de 30 minutes, et les résultats obtenus sont portés sur la courbe n° 2 et le tableau n° 3.

TABLEAU 3

HISTAMINE INACTIVEE PENDANT DES PERIODES DE
30 minutes (sang total de femme enceinte)

Minutes	30	60	90	120
Hase. $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	2,2	3	3,7	4,2



Dans l'exposé de nos recherches nous exprimerons nos résultats par le nombre de microgrammes (μg) d'hi détruite pendant une heure à la température de $37^\circ \text{C}.$, par un centimètre-cube de sang, ou de tout autre liquide physiologique ou d'un gramme de tissu.

On utilise parfois une autre unité d'hase. : la LASKOSKI UNIT (L.U.) Une unité correspond à la quantité d'enzyme qui consomme 1 cm^3 d'oxygène par minute, en présence d'un μg .

d'hi., cela à 37° et pH 7,2.

Tout récemment KAPELLER ADLER (1951) propose une méthode volumétrique fondée sur le fait que, sur l'action de l'hase., une molécule d'eau oxygénée est formée pour chaque molécule d'hi. Oxydée.

Le sang est mis en contact avec de l'hi. pendant 24 heures, en présence de disulfonate d'indigo comme indicateur. On fait barboter un courant d'oxygène pendant une minute. Parallèlement, il est nécessaire de faire un essai témoin. La différence entre les quantités d'oxygène utilisées pour les échantillons à doser d'une part, et par l'essai témoin d'autre part, est déterminée au moyen d'une solution de permanganate de potassium.

Les résultats sont exprimés en se servant d'une nouvelle unité la "Permanganate unit" (P U); qui correspondent à la quantité d'enzyme qui, après une incubation de 24 heures à 37°C, à pH 7,2 dans une atmosphère d'oxygène en présence de 1 milligramme d'hi; comme un substrat, utilise 0,1 cm³ d'une solution 0,002 N de permanganate de potassium.

CHAPITRE IV

=====

L'HISTAMINASE DU SANG

C'est dans le sang que BEST (1929) a découvert pour la première fois un pouvoir inactivateur pour l'hi.

Depuis, de nombreux auteurs ont cherché à déterminer l'activité histaminolytique du sang des différents genres de mammifères.

MARCOU (1939), AHLMARK (1944), ANREP; BARSOUM, IBRAHIM (1947), CARLSTEN, KAHLSON et WICKSELL (1949) étudient la répartition de l'hase. sanguine chez quelques animaux.

Nous donnons ci-dessous, des résultats obtenus par ces divers chercheurs. Nous rappellerons, toutefois que ces résultats dépendent, d'une part de la méthode employée, et, d'autre part du milieu étudié : sérum, plasma, ou sang total. AHLMARK trouve une destruction moyenne de 0,24 μg d'hi. par cm^3 et par heure dans le plasma de onze cobayes mâles, et 0,08 μg chez sept cobayes femelles non gravides. Pour le lapin 0,29 μg et 0,21 μg d'hi. détruite par cm^3 de plasma et par heure, respectivement chez le mâle et la femelle. Le plasma de rat ne présente aucune activité histaminolytique.

Cependant, ANREP, BARSOUM et IBRAHIM opérant sur le sérum trouvent chez 25 cobayes un chiffre moyen de

0,15 μg par cm^3 pour un temps d'incubation de 30 minutes; chez le lapin le taux d'inactivation atteint 0,3 μg alors que le sang du chien, du rat, du chat et du cheval ne présente aucune activité histaminolytique.

Appliquant la même méthode au plasma sanguin, CARLSTEN KAHLSON et WICKSELL trouvent chez le chien 0,07 μg d'hi. inactivée par cm^3 de plasma et par heure.

En outre, DIAZ et coll. (1948), travaillant avec le sang de cobaye, trouvent que celui-ci est presque entièrement dépourvu d'hase.

AHLMARK dans sa thèse, pense que les résultats contradictoires obtenus sont probablement attribués au fait que les différents auteurs n'ont pas tenu compte de l'importance du sexe, et, dans le cas de la femelle, d'une grossesse éventuelle.

Nous-mêmes, nous avons déterminé l'activité histaminasique chez le Cobaye, le Lapin, le Chien et le Rat, en prenant soin d'opérer sur des animaux mâles ou à défaut, sur des femelles non gravides.

Le sang des animaux est prélevé par ponction cardiaque, et recueilli sur citrate de sodium, le dosage est effectué sur le sang total. La quantité d'hi. ajoutée à chaque échantillon de sang a été conditionnée par l'activité enzymatique de ce dernier. Ainsi, chez le cobaye et le lapin nous avons ajouté 2 μg par cm^3 . Pour le chien et le rat 1 μg par cm^3 de sang. Nous laissons incuber une heure à 37°, et après ce temps nous bloquons l'activité histaminolytique en chauffant cinq minutes au bain-marie bouillant.

Dans le tableau n° 5 sont exprimés les résultats obtenus, en ce qui concerne les taux sanguins en hase. et en hi.

DISCUSSION DES RESULTATS

Nous n'avons remarqué aucune différence sensible selon le poids ou le sexe des animaux. La teneur en hase. du sang de cobaye est plus élevée que chez les autres animaux de laboratoire.

TABLEAU N° 5

TAUX d'HISTAMINE et d'HISTAMINASE DANS LE SANG

DE DIFFERENTES ESPECES ANIMALES

Animal	Sexe	Poids	Hase	Hi.	Animal	Sexe	Poids	Hase.	Hi.
COBAYE	♂	415	0,05	0,05	LAPIN	♂	1845	0,05	5,2
"	♂	350	0,1	0,15	"	♂	2070	0	-
"	♀	355	0,08	0,8	"	♀	2040	0,1	3,8
"	♀	340	0,06	0,25	"	♂	1805	0	7
"	♂	260	0,1	0,05	"	♀	1520	0,07	-
"	♂	220	0,08	0,66	"	♂	1980	0,05	6,25
"	♀	200	0,05	0,2					
"	♂	210	0,05	0,3					
"	♂	390	0,12	-					
"	♂	395	0,2	0,05	RAT	♂	85	0	0,05
"	♂	405	0,05	-		♀	95	0	0,05
						♂	93	0,05	0,05
						-	100	0	0,08
CHIEN	♂	7,5 kg	0,05	0,08		♀	105	0,05	0,08
"	♂	9	0	0,1		♂	95	0	0,05
"	♀	8,5	0,05	0,25					
"	♂	1,2	0,12	0,05					

D'autre part, le pouvoir histaminolytique du sang est du même ordre chez le chien, le cobaye et le lapin, mais chez ce dernier animal, le taux sanguin d'hi. est plus élevé que chez le chien et le cobaye.

MARCOU (1938) AHLMARK (1944) et ANREP avaient déjà constaté que le sang de chien ne possède qu'une action anti-histaminique très faible.

De l'ensemble des résultats on peut tirer la conclusion que la teneur du sang en hase. varie notablement suivant les espèces, et n'a aucun rapport avec la susceptibilité de ces dernières à l'égard de l'hi.

=====

REPARTITION DE L'HISTAMINASE DANS LES ELEMENTS

DU SANG

Après avoir caractérisé et évalué l'activité histaminolytique dans le sang de l'Homme et de différents Mammifères, nous avons voulu voir si cette activité est attribuable au sérum, au plasma, ou aux éléments globulaires.

La répartition de l'hase. entre plasma et globules a été étudié par BARSOUM et GADDUM (1935) qui ont trouvé une relation entre les globules rouges et le plasma d'environ 10:1 dans le sang de lapin.

BARSOUM (1936), trouve que le rapport est encore plus élevé: 16 à 20 fois plus grand dans les globules rouges que dans le plasma du même animal.

Pour CODE (1937) de 70 à 100 pour cent de l'hi sont renfermés par les globules blancs. Au contraire, le plasma

et les globules rouges n'en contiennent que fort peu. Cet auteur remarque d'autre part, que l'hi. des globules blancs peut être libérée et apparaître dans le sérum au cours de la coagulation. Parmi les globules blancs, ce sont les granulocytes qui seraient de beaucoup les plus riches. Quant aux plaquettes sanguines, elles ne contiendraient pratiquement pas d'hi.

PARROT et GABE (1945) obtiennent la séparation des divers éléments blancs par une série de centrifugations opérées avec une vitesse adéquate, et trouvent que l'hi. est renfermée principalement dans les éléments figurés du sang. Cependant, il faut noter que cette substance est localisée pour la plus grande part dans les leucocytes, et cela surtout dans les polynucléaires éosinophiles; mais ce sont les plaquettes qui possèdent la plus forte teneur en hi.

Cette dernière conclusion a été déjà établie par les travaux de ZON (1939) faite sur le sang de lapin. A l'aide de sérum antiplaquettaire, cet auteur amène une chute du taux de plaquettes de 500.000 à 50.000 par mm^3 de sang. Concuremment la concentration d'hi. sanguine de $2,5 \mu\text{g}/\text{cm}^3$, tombe à $1 \mu\text{g}/\text{cm}^3$.

MINARD (1941) arrive à la même conclusion en utilisant toujours du sérum antiplaquettaire et le sang de lapin. Par contre, il ne trouve qu'une très faible proportion d'hi. dans le sang de chien appauvri en plaquettes.

TRAVAUX PERSONNELS

Nos recherches ont été orientées vers deux buts principaux : déterminer les teneurs respectives en hase. du plasma, du sérum, et du sang total puis préciser, parmi les différents éléments globulaires, la catégorie qui renferme l'enzyme en plus grande quantité.

Dans la première partie de nos recherches nous nous sommes adressés au sang de femme enceinte dont nous connaissons le fort pouvoir antihistaminique.

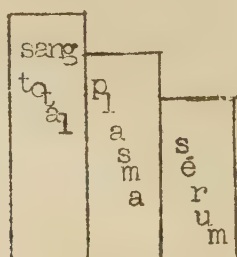
Le sang a été prélevé le matin, à jeun, au pli du coude, et traité immédiatement en vue du dosage. Le plasma a été recueilli après centrifugation à 3.000 tours pendant 10 minutes.

Les résultats que nous avons obtenus nous permettent de conclure que c'est le sang total qui possède la plus grande activité histaminolytique, viennent ensuite le plasma, puis le sérum.

La teneur moyenne en hase. de ces trois milieux est la suivante :

Sang total	: 4,8 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ / heure
Plasma	: 4,1 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ / heure
Sérum	: 3,2 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ / heure

Le diagramme ci-joint illustre nos conclusions :



Compte tenu de ces résultats et pour obtenir dans nos expériences la plus grande précision possible, tous nos travaux ultérieurs nécessitant des déterminations d'hase. sanguine ont été pratiqués sur le sang total.

La deuxième partie de notre travail a eu pour but d'étudier la répartition de l'hase dans les éléments globulaires.

La séparation du sang, des leucocytes et des plaquettes n'est pas chose facile. Avec les moyens de travail de notre laboratoire nous avons tenté en vain d'isoler un échantillon de plaquettes débarrassé des autres éléments. La difficulté de cette sélection tient en particulier à la faible différence de poids spécifique entre chacun des éléments sanguins:

Plasma	I.020
Plaquettes.....	I.045
Globules blancs	I.056
Globules rouges.....	I.079

Nous avons opéré par centrifugation à 3.000 tours pendant 15 minutes à l'aide du tube de BABCOOK. Ce tube comporte dans sa partie médiane un étranglement, de telle sorte qu'à la fin de la centrifugation la couche d'éléments blancs est située au niveau de cet étranglement. En principe, la couche leucocytaire se répartit en deux fractions superposées, les plaquettes occupent la partie supérieure. Malgré toutes les précautions prises durant les manipulations de

pipettage pour prélever la couche de plaquettes à l'aide d'aiguilles en verre de forme variée, l'examen microscopique a montré une préparation riche en plaquettes certes, mais contenant toujours des globules blancs, car la couche leucocyto-plaquettaire, en dépit de son apparente cohésion, n'est pas constituée, en fait, que par une juxtaposition d'éléments figurés, et se dissocie dès qu'on tente de la recueillir.

Nos moyens de travail dans ce domaine ont alors, été grandement améliorés, grâce aux ressources mises à notre disposition par le Service Central de Transfusion et de Réanimation de l'Armée, et à la collaboration éclairée du Médecin-Commandant B. MAUPIN. Nous avons pu obtenir ainsi, des suspensions des globules rouges, globules blancs et plaquettes, ces dernières complètement dépourvues de leucocytes. La technique de séparation utilisée par le Cdt. MAUPIN (1950) repose sur le principe suivant :

Les tapis leucocytaires, provenant d'une centrifugation préalable des sangs citratés, sont mélangés avec une solution à 5% de polyvinyl-pyrrolidone (Subtosan) qui agit comme accélératrice de la sédimentation. Celle-ci a une durée d'une heure et demie. Ensuite, on procède à l'évacuation douce de la crème leucocytaire formée.

Pour nos expériences, nous avons pu disposer ainsi, d'une suspension très concentrée en globules rouges (6-8 millions au mm^3), d'une suspension de globules blancs contenant environ 200.000 leucocytes par mm^3 , mais aussi

un grand nombre de plaquettes (après 3 centrifugations on trouvait 6 plaquettes pour un leucocyte). Par contre la solution plaquettaire, très concentrée, était complètement dépourvue de globules blancs.

Sur ces différentes suspensions, nous avons procédé aux dosages de l'hase et de l'hi. Après vérifications au microscope de l'intégrité morphologique des différents éléments, les solutions titrées, de diverses concentrations de globules rouges, globules blancs et plaquettes, ont été diluées avec du liquide Tyrode. Ainsi, la concentration de la solution de plaquettes utilisée est comparable à celle du sang humain, c'est-à-dire 250.000 plaquettes environ, par mm^3 . Nos résultats sont exposés dans le tableau n° 6 ci-après

DISCUSSION DES RESULTATS

Nous avons successivement employé la méthode classique de CODE et la méthode simplifiée de DIAZ et jamais nous n'avons pu mettre en évidence la présence d'hi. dans les plaquettes. Ce résultat et, d'ailleurs, en accord avec ceux obtenus par CODE (1937).

Nous avons constaté, par contre, l'importante action histaminolytique des thrombocytes, même lorsque ces éléments ne sont présents qu'en faible quantité.

La constance et l'importance de cette dégradation enzymatique fait penser au rôle que sont susceptibles de jouer les plaquettes comme vecteurs de l'hase. sanguine dans l'organisme.

TABLEAU N° 6

HISTAMINASE et HISTAMINE dans une SUSPENSION
d'ELEMENTS SANGUINS

Plaquettes par mm ³	G. blancs par mm ³	G. rouges par mm ³	hase. µg/cm ³ h.	hi. µg/cm ³	hase. Sang
50.000.000	0	0	4,75	-	-
31.600.000	6.000	20.000	5	0,05	-
19.000.000	1.400.000	700.000	0	2,2	-
19.000.000	1.000.000	800.000	0,66	-	-
3.600.000	400	0	2,77	-	-
2.720.000	278.000	162.000	>0,05	0,3	-
2.400.000	0	0	3,8	>0,05	-
1.940.000	1.000	3.000	4	0	0,6
1.200.000	3.300	1.000	2	-	-
914.000	37.400	4.440	0,06	0,1	-
380.000	0	0	1,08	>0,05	-
300.000	0	0	0,93	-	-
300.000	5.300	0	0,08	-	-
266.000	435	0	0,06	0,1	-
250.000	0	0	1,9	0	-
250.000	0	0	1,8	-	-
250.000	20	0	>0,05	-	-
250.000	0	0	0,8	0	0,2
250.000	0	0	1,25	0	-
244.000	26	0	1,25	>0,05	>0,05
120.000	7.840	0	0,08	0,8	-
0	0	4.000.000	0	>0,05	-

En effet, la lecture de nos résultats permet de remarquer un parallélisme entre la concentration en plaquettes et le pouvoir histaminasique des suspensions.

Mais, comment expliquer alors la faible activité histaminolytique du sang total ?

Pour essayer de trouver une explication à ce phénomène, nous avons réalisé le mélange de plaquettes avec d'autres éléments du sang dans des proportions déterminées. Nous constatons que l'addition d'hématies aux plaquettes n'apporte aucune modification au pouvoir enzymatique. Par contre, l'addition de leucocytes inhibe partiellement ou totalement l'activité histaminasique des plaquettes, selon les proportions relatives des deux éléments. (VALETTE, MAUPIN, HUIDOBRO 1951).

C'est ainsi qu'une suspension renfermant 20×10^6 de plaquettes, et 1×10^6 de leucocytes par mm^3 , ne possède qu'une activité histaminolytique de 0,6 μg , alors qu'une autre suspension renfermant dix fois moins de plaquettes, soit 2×10^6 par mm^3 , mais dépourvue de globules blancs, accuse une histaminolyse de 4 μg .

Il nous a donc, paru intéressant d'étudier la variation de l'activité histaminasique d'une suspension de plaquettes au titre normal de 200.000 à 300.000 par mm^3 , en fonction de la proportion de leu-

cocytes qu'on y introduit.

Le tableau N° 7 précise les résultats ainsi obtenus:

Nombre de leucocytes par mm ³ , et pour 250.000 plaquettes	Histamine µg/cm ³ / heure
8	1,8 - 1,8 - 2
250	1,25
660	0,75
2.150	> 0,05
4.380	0,8
4.780	> 0,05
8.260	0,6
10.000	> 0,05
43.200	0

Ainsi, la présence de leucocytes à des taux pourtant bien inférieurs à celui du sang normal (7.000 à 8.000 par mm³) suffit à inhiber manifestement le pouvoir histaminasique des plaquettes; on s'explique donc, maintenant, le pouvoir enzymatique pratiquement nul du sang total à l'égard de l'histamine.

S'agit-il d'une destruction de l'enzyme par les globules blancs, ou plus simplement d'un effet de compétition entre l'hi. introduite dans la solution et les leucocytes qui, contrairement aux plaquettes, se montrent assez riches en hi.? C'est ce que des expériences ultérieures s'efforceront de préciser.

INFLUENCE DE LA SAIGNEE SUR LE TAUX D'HISTAMINASE SANGUINE

Il nous a paru intéressant de reprendre les travaux d'UNGAR et PARROT (1939) concernant l'influence de la saignée sur le pouvoir histaminasique du sang.

Ces auteurs ont constaté qu'une saignée importante occasionne une élévation de la teneur d'hase, dans le sang. Cela, davantage pour le sang veineux què pour le sang artériel.

Nous avons opéré sur le chien chloralosé, auquel nous avons prélevé 2 à 3 cm³ de sang, dans différents territoires de l'organisme. On pratique alors, par la voie fémorale, une saignée plus ou moins importante. Après un certain temps on effectue un nouveau prélèvement de sang dans les mêmes territoires. Chez le lapin et le cobaye, les deux prélèvements de sang ont été faits par ponction cardiaque. Les résultats sont exposés dans le tableau n° 8.:

L'HISTAMINASE SANGUINE AVANT ET APRES LA SAIGNEE

CHEZ LE CHIEN

Sexe	Pds Gr.	Sai- gnée de la cm ³	Durée de la ter- saig. velle	In- carotide	Hase. (µg/cm ³ /heure							
					carotide		Rein		Porte		Mesenter	
					Av.	Apr.	Av.	Apr.	Av.	Apr.	Av.	Apr.
♂	7500	60	3'	30'	0,1	0,2	0,2	0,3	0,15	0,15	-	-
♂	9000	80	3'	60'	0,1	0,2	0,4	0,4	-	-	0,2	0,2
♀	8500	925	10'	15'	0,15	0,25	0,3	0,4	-	-	0,25	0,25

CHEZ LE LAPIN et le COBAYE

Animal	Sexe	Poids g.	Saignée cm ³	Durée saig.	Inter- valle	Hase (ug/cm ³ /h.)	
						Avant	Après
LAPIN	♂	2075	15	1'	60'	0,8	0,8
"	♀	2120	10	1'	60'	0,05	0,08
"	♂	1780	13,5	6'	60'	0,05	0,05
"	♂	1900	17	10'	60'	0	>0,05
COBAYE	♂	480	5	1'	60'	>0,05	0,1
"	♀	790	8	1'	120'	0,12	0,12
"	♂	330	6,5	1'	60'	0,05	0,1
"	♂	380	7	1'	15'	>0,05	0,05

DISCUSSION DES RESULTATS

Nos résultats confirment ceux qu'avaient obtenus FARROT et UNGAR.

Ces auteurs travaillent sur une dilution de plasma dans le sérum physiologique renfermant 0,2 ug d'hi. par cm³, ils font incuber cette préparation deux heures à 38°C.

La quantité d'hi. détruite est exprimée en pourcentage de la quantité totale en expérience. FARROT et UNGAR constatent aussi, qu'à la suite de la saignée, le plasma est capable d'inactiver de 50 à 85 % de l'hi. introduite. Ils ajoutent que le sang veineux est plus riche en hase. que le sang artériel.

Pour notre part, en travaillant sur le sang total, nous avons confirmé les résultats qu'avaient obtenus les auteurs précités. En règle générale l'hase. sanguine augmente

effectivement après la saignée. Ceci est à rapprocher des faits que signalent WHITLEY et BRITTON (1950). D'après ces auteurs, l'hémorragie entraînerait une immédiate et sensible augmentation du taux des plaquettes dans le sang, ce qui peut expliquer l'augmentation corrélatrice du taux d'hase.

INFLUENCE DE L'ADMINISTRATION D'HISTAMINE SUR L'ACTIVITE HISTAMINOLYTIQUE

En 1933 MAC GREGOR et PEAT ont démontré qu'une préparation de rein de chien est susceptible d'inactiver une forte quantité d'hi. ajoutée à la solution de Tyrode servant à le perfuser.

Ce pouvoir d'inactivation n'est pas particulier au rein, on le retrouve moins intense dans l'intestin, dans le foie, et dans le poumon.

ROSE et BROWNE (1938) injectent à des rats anesthésiés à l'éther 96 µg d'hi. par g. d'animal, par voie intraveineuse. Ils contrôlent ensuite, la disparition de l'hi. en fonction du temps. Au bout d'une heure, plus de la moitié de la quantité administrée a été inactivée, l'inactivation étant complète en cinq heures.

CARLSTEN, KAHLSON et WICKSELL (1949) pratiquent une expérience similaire sur le chien. A la lumière de leurs résultats, il apparaît que l'activité histaminolytique du plasma s'accroît sensiblement après l'administration d'hi. Le même phénomène se produit avec encore plus d'intensité dans la lymphe et les ganglions lymphatiques. Les auteurs voient d'ailleurs, dans la richesse de la lymphe en hase., la principale ressource de protection de l'organisme contre l'hi.

EXPERIENCES PERSONNELLES

Nous avons pratiqué nos expériences sur le cobaye à cause de sa sensibilité et la constance des réactions

de cet animal vis à vis de l'hi.

Nous décrirons deux séries d'expériences. Dans la première, l'hi. a été administrée par voie intrapéritonéale, dans la seconde par inhalation d'aérosol.

ADMINISTRATION D'HISTAMINE PAR VOIE INTRAPERITONIALE

Nous avons tout d'abord déterminé la dose minimum mortelle chez le cobaye. Pour l'animal pesant entre 250 et 350g., la mort survient après injection de 0,6 à 1 mmg. par kilo.

Dans les expériences qui suivent, la dose utilisée sera de 0,3 mmg. par kilo. Les animaux ne paraissent pas souffrir de cette dose. A intervalles réguliers de 30 minutes nous procédons à des prélèvements de 1cm³ de sang par ponction cardiaque. Le sang est recueilli comme d'habitude sur citrate, et on le fait incubé pendant une heure en présence de 2 µg. d'hi. par cm³ de sang. Nous poursuivons le dosage selon notre technique courante. Nos résultats sont rapportés dans le tableau n° 9.

VARIATION DE L'HASE. SANGUINE APRES L'INJECTION D'HI.

Poids	Sexe	N° d'injections	Histaminase (µg/cm ³ /heure)				
			Avant	30' apr. injection	60' apr.	90' apr.	120' apr.
325		I	0,06	0,05	0,1	0,5	0,5
240		I	0,1	0,1	0,15	0,15	0,15
310		2	0,05	0,05	0,08	0,08	0,1
325		I	0	0,05	0,05	0,05	0,05
300		I	0,5	0,3	0,4	0,5	0,5
250		2	0,1	0,1	0,13	0,15	0,2
350		I	0,05	0,05	0	0,05	0,05
340		2	0,05	0,05	0,05	0,05	0,07

ADMINISTRATION D'HISTAMINE PAR ADMINISTRATION D'AÉROSOL

L'inhalation d'aérosol obtenue à partir d'une solution aqueuse d'hi., détermine chez le cobaye un bronchospasme qui peut être mortel si l'animal n'est pas soustrait assez tôt à l'action du toxique.

Dans nos expériences, nous avons utilisé la chambre d'aérolisation conçue par HALPERN(1942) et une solution dont la formule est la suivante :

Bichlorhydrate d'hi. 0,20 g.
Eau distillée q.s.p. 100 g.
Glycérine 10 g.

Nous avons travaillé sur des cobayes de même poids et de sexe différent. Les animaux exposés à l'aérosol étaient sortis de la chambre d'expérience dès le début des symptômes dyspnéiques. On répète le même traitement plusieurs fois dans la même journée, séparés par différents intervalles de temps. Le nombre des opérations, la durée de chacune d'elles, les intervalles de temps qui les ont séparées, sont donnés dans le tableau n° 10 .

VARIATIONS DE L'HASE. SANGUINE APRES L'ADMINISTRATION D'AÉROSOL D'HI.

Poids	Sexe	Nb're expo- sition	Durée expo- sition	Inter- valle	Hase. ($\mu\text{g}/\text{cm}^3/\text{heure}$)	
					Avant	Après
280	♀	3	55"	90'	0,05	0,1
255	♀	3	70"	60'	0,1	0,1
270	♂	4	90"	60'	0,13	0,11
280	♂	4	90"	45'	0,15	0,20
230	♂	4	120"	60'	> 0,05	> 0,05
300	♂	2	150"	120'	0,1	0,15
275	♂	2	150"	120'	> 0,05	> 0,05

CONCLUSION

Nous n'avons jamais pu constater qu'une augmentation peu significative et parfois nulle, du pouvoir histaminolytique du sang du cobaye après l'administration d'hi. par différentes voies.

HISTAMINASE ET GROSSESSE

En 1938, MARCOU observe le premier, l'augmentation du pouvoir histaminasique du sang de la femme enceinte. Il précise que ce pouvoir réside surtout dans le plasma et est 3 à 4 fois supérieur à celui de la femme non enceinte.

AHLMARK (1944), qui a apporté la plus importante contribution à l'étude de ce sujet, estime à cent fois l'augmentation de ce pouvoir enzymatique. Celle-ci commence à se manifester dès la septième semaine qui suit la dernière menstruation, et s'annule deux semaines après la parturition.

Entre le 3ème et le 4ème mois de la grossesse, l'index histaminolytique est d'un microgramme par cm^3 par heure, et au 7ème mois il atteint 4,5 μg . AHLMARK estime, d'autre part, que le plasma de la femme non enceinte à une teneur moyenne de 0,005 à 0,006 $\mu\text{g} / \text{cm}^3 / \text{heure}$.

WICKSELL (1949) en travaillant sur le plasma obtient des résultats un peu plus élevés.

On admet aujourd'hui que l'hase sanguine au cours de la grossesse est d'origine placentaire. En effet, nous verrons que le placenta est très riche en hase. Pour WICKSELL pendant la grossesse l'action histaminasique du placenta est 20 fois plus forte que celle du sang.

Pour VANDENDRIESSCHE et JAWORSKI (1949) la teneur est 10 fois supérieure, et pour ANREP, BARSOUM et IBRAHIM (1947) 10 à 15 fois, dans le placenta que dans le sang de la femme à terme. Ces auteurs ont remarqué qu'il n'y a pas de différence entre l'hase placentaire au commencement et à la fin de

la grossesse.

Dans un récent et important travail SWANBERG (1950), étudie l'activité antihistaminique des diverses couches placentaires. On sait que le placenta est constitué de deux couches, une couche maternelle, dite deciduale, et une couche foetale. Or, en faisant des dosages comparés d'hase. dans chacune de ces deux parties, l'auteur trouve un pouvoir enzymatique 20 fois plus élevé dans la deciduale que dans la phase foetale.

D'autre part, le sang du cordon, côté enfant, a une teneur histaminolytique extrêmement basse, et la mort du foetus in utero n'entraîne pas de baisse du pouvoir histaminolytique.

A l'appui de ces faits expérimentaux, il est donc permis de penser que la source de l'hase. dans l'organisme de la femme enceinte, est située dans la deciduale.

De plus, SWANBERG étudie la teneur en hase. du placenta de différents genres de Mammifères. Ses principaux résultats sont les suivants :

Le placenta de cheval ne contient pas d'hase. dans sa partie foetale et ne possède pas de deciduale. Par contre, le placenta de cobaye, de lapin et surtout de rat possède une intense activité histaminasique qui atteint dans la deciduale de rat le taux le plus élevé que l'on connaisse : 8.100 µg par g.

Quant au placenta de femme, le pouvoir enzymatique de ce deciduale est de 950 µg par g., chiffre déjà

remarquable.

En consultant ces chiffres, il convient de faire une remarque d'ordre zoologique.

On sait que chez les Mammifères placentaires, le placenta à la délivrance, peut-être accompagné ou non de déciduale; ces animaux peuvent ainsi être divisés en deux groupes:

1) Les decidus, chez lesquels le placenta comporte une déciduale; on y trouve les Primates, les Carnivores et les Rongeurs.

2) Les indécidus, chez lesquels le placenta ne comporte pas de déciduale; on y trouve en particulier les Ruminants et les Equidés.

Ainsi, l'absence d'hase. dans le placenta de cheval par exemple, pourrait donc s'expliquer par le fait que la déciduale n'est pas expulsée lors de la délivrance, et qu'on ne peut avoir entre les mains que la partie foetale presque complètement dépourvue d'hase. dans toutes les classes de Mammifères.

TRAVAUX PERSONNELS

Nous avons appliqué notre méthode de dosages de l'hase. à des échantillons de sang provenant de femme enceinte à diverses périodes de leur grossesse.

En consultant les résultats dans le tableau n° II on pourra remarquer un net accroissement de l'activité histaminolytique à partir de la 10^e semaine. Ensuite cette activité continue à augmenter pour atteindre sa valeur

maximum dans les derniers jours qui précèdent l'accouchement.

Selon AHLMARK, le pouvoir histaminolytique maximum est situé entre le 6ème et le 7ème mois, pour diminuer ensuite lentement jusqu'au terme.

Nos résultats par contre, tendent à montrer que l'hase. augmente régulièrement jusqu'au jour de l'accouchement.

TABLEAU II - L'ACCROISSEMENT DE L'HASE. PENDANT LA GROSSESSE.

Temps de grossesse en semaines	Hase. $\mu\text{g}/\text{cm}^3/\text{heure}$	Méthode
9	0,05	DIAZ
10	1,33	CODE DIAZ
16	3,33	ANREP (Plasma)
18	10	DIAZ
18	5,75	DIAZ
19	9,33	DIAZ
20	5,66	DIAZ
20	6,75	DIAZ
22	7,9	CODE
27	12,3	CODE - DIAZ
27	18	CODE
29	22	CODE
29	18,75	ANREP(plasma)
29	17	ANREP
32	20	CODE
34	24,3	CODE
36	23	CODE
37	29	DIAZ
38	25	CODE
39	21	CODE
40	25	DIAZ - CODE
40	33	DIAZ

L'HISTAMINASE DANS LE SANG DE CORDON OMBILICAL

L'étude des relations entre l'hase. du sang foetal et l'hase. du sang maternel a été réalisée grâce à la collaboration du Med.Pediatre A. MENUJIN.

Dans ces recherches nous avons voulu établir si la forte activité enzymatique du sang maternel se retrouve ou non, dans le sang du nouveau-né.

Déjà en 1947, ANREP, BARSOUM et IBRAHIM, reprenant les travaux de MARCOU (1939), ont remarqué une destruction d'hi. égale à 95% dans le cas du plasma maternel et à 33% dans le cas du sang de nouveau-né.

Ils en concluent que le foetus n'est pas la source de l'hase. chez la femme enceinte.

WIECKSELL (1949) réalise une série d'expériences dans lesquelles il constate que l'hase. figure, dans le plasma foetal à un taux sensiblement plus bas que dans le plasma maternel. Les chiffres moyens de 7 expériences sont les suivants :

Pour le plasma maternel 4,7 $\mu\text{g}/\text{cm}^3/\text{heure}$

" " " foetal 0,014 $\mu\text{g}/\text{cm}^3/\text{heure}$

De même VANDENDRIESCHE et JAWORSKI (1949) trouvent, en travaillant sur le sérum, les résultats suivants:

Pour le sérum maternel 94% d'hi. détruite

Pour le sérum foetal 28% d'hi. détruite

C'est-à-dire que le pouvoir histaminolytique du sang foetal serait de 3 à 4 fois plus faible que celui du sang maternel.

Dans son mémoire déjà cité, SWANBERG (1950) estime que l'activité histaminasique du sang foetal est très basse, et presque égale à celle de la femme non enceinte. D'après lui, il est donc difficile de penser que le foetus soit la source de l'hase.maternelle.

Nous donnons dans le tableau n° 12 nos propres résultats.

Le sang du cordon appartient toujours à la partie foetale. La quantité d'hi. ajoutée est de 10 μ g par cm³.

TABLEAU N° 12 - HASE.DANS LE SANG DU CORDON

N° d'échantillon de sang	I021	I022	I024	2042	2045	2058	2060
Hase. μ g/cm ³ /h.	1,25	I	0,40	>0,05	0,75	I	0,9

RÔLE DE L'HISTAMINASE CHEZ LA FEMME ENCEINTE

La réduction rapide et importante de l'activité histaminasique du sang après l'accouchement peut faire considérer le placenta comme la source de l'enzyme dans l'organisme de la femme enceinte.

Cependant ANREP, BARSOUM et IBRAHIM (1947) font jouer ce rôle au foetus. Cette dernière conception nous paraît inexacte en raison de la faible activité du sang foetal prélevé après section du cordon, et aussi, en

raison de la chute rapide de l'hase. dans le sang du nouveau-né, chute plus marquée, encore, que dans le cas du sang maternel. Il est hors de doute que l'importante activité histaminolytique du sang de la femme enceinte possède une signification physiologique.

MARCOU voyait là, un phénomène tendant à assurer aux parturiantes un moyen supplémentaire de défense et de protection nécessaire pendant l'accouchement.

Selon AHLMARK et ANREP le phénomène de l'augmentation de l'hase. pendant la grossesse paraît être l'apanage de l'espèce humaine. Chez les autres Mammifères, l'action antihistaminique, dans les mêmes circonstances, serait nulle ou très discrète. Les travaux de SWANBERG (1950) que nous avons rapporté plus haut viennent à l'encontre de cette assertion.

CORTICO-SURRENALECTOMIE ET HISTAMINASE

Depuis la découverte de l'hi., les chercheurs ont accumulé les preuves d'une relation entre l'activité des surrénales et la possibilité, pour les tissus de l'organisme, d'inactiver l'hi. DALE et LAIDLAW (1912) furent les premiers à démontrer que la surrénalectomie augmente la sensibilité, vis-à-vis de l'hi., des animaux opérés. DALE (1920) cherche à préciser le rôle respectif de la corticale et de la médullaire dans cette hyporésistance. Il n'arrive, d'ailleurs, à aucune conclusion précise.

PERLA et GOTHERMANN (1931) expérimentant sur des rats surrénalectomisés, rendent responsable l'ablation de la partie corticale de cette hypersensibilité à l'hi.

De son côté, WYMAN (1932), opérant sur les mêmes animaux, pose la conclusion inverse où il affirme que la source de l'histaminorésistance réside dans la médullo-surrénale.

ROSE et BROWNE (1938) apprécient la résistance des rats surrénalectomisés à des doses croissantes d'hi., et trouvent que le pouvoir histaminasique est sensiblement plus faible chez l'animal décapsulé que chez le chat normal. Cette déficience pouvant être associée à une chute de l'hase. tissulaire. C'est, d'ailleurs, ce que confirment les expériences ultérieures de ROSE et KARADY (1939), de ROSE, KARADY et BROWNE (1940), où l'hase. contenue dans le parenchyme pulmonaire du rat diminue après surrénalectomie. D'ailleurs, l'administration d'extraits

corticosurrénaux à l'animal décapsulé restaure le pouvoir histaminasique. Cependant, ces auteurs estiment que la diminution du taux d'hase. dans le poumon du rat surrénalectomisé n'est pas suffisant pour expliquer la sensibilité accrue de l'organisme à l'hi., car cette diminution n'apparaît nettement que chez les animaux qui ne reçoivent plus de chlorure de sodium avec leur eau de boisson.

Plus récemment, CARLSTEN, KAHLSON et WICKSELL (1949) en opérant sur des chiens, et CARLSTEN et WOOD (1951) sur des chats surrénalectomisés, ne trouvent pas de modification de l'action antihistaminasique plasmatique. Cependant, dans la lymphe thoracique, le taux d'hase. passe de 0,11 à 1,3 $\mu\text{g}/\text{cm}^3/\text{heure}$, taux que l'injection d'extraits corticosurrénaux ramène à la normale. Ces résultats contradictoires nous ont incité à étudier de nouveau la question, et nous avons tout d'abord étudié chez le rat l'influence de la surrénalectomie bilatérale sur la teneur en hase. du sang et de l'intestin grêle. Nous avons ensuite recherché, sur ces animaux surrénalectomisés, les effets d'injections d'hormones corticales, et de cortico-stimuline. Nous décrivons cette dernière expérience à la fin du chapitre.

Nous avons utilisé des rats des deux sexes pesant environ 100 g., et nous les avons répartis par couple de deux. Un rat de chacun de ces couples a été surrénalectomisé selon la technique de GOTHERMANN et PERLA (1931).

Après l'opération, les animaux ont toujours eu à leur disposition de l'eau salée pour maintenir l'équilibre ionique et compenser la fuite du sodium au dehors de l'organisme; leur température rectale a été surveillée quotidiennement. Celle-ci ne doit pas descendre au-dessous de 36°C et la température ambiante doit être maintenue aux environs de 30°C .

Au troisième jour après l'ablation, apparaissent en général les symptômes d'insuffisance surrénale: lassitude, hypothermie, parfois de la diarrhée.

L'animal est sacrifié suivant son état, entre le 5ème et le 7ème jour, et on détermine la teneur en hase. de son intestin grêle. En effet, cet organe semble être le plus riche en hase. chez le rat (ROSE et KARADY (1939)). Par contre, le rein du rat paraît en être presque complètement dépourvu (MAC HENRY et GABIN (1931)).

L'intestin est prélevé immédiatement après la mort de l'animal. On le lave intérieurement avec du liquide de Tyrode et on prélève une anse pesant environ 1 g. Le fragment d'organe est broyé et mis en contact avec 25 μg d'hi. à 37°C pendant 1 heure. L'extraction est faite par la méthode DIAZ que nous employons habituellement. On pratique en même temps un essai témoin.

Parallèlement, nous avons suivi les effets de la surrénalectomie sur le pouvoir histaminolytique du sang. Dans ce cas, la dose d'hi. mise à incuber avec le sang a été de 2,5 à 5 μg par cm^3 . Nos résultats sont exprimés

dans les tableaux N° 13 et 14

TAUX D'HASE. SANGUINE ET INTESTINALE CHEZ LE RAT NORMAL

TABLEAU N° 13

Poids	Sexe	Hase. ($\mu\text{g}/\text{cm}^3/\text{h.}$)	
		sang	intestin
85	♂	>0,05	4,5
95	♀	>0,05	3,7
105	♀	0,08	2,5
90	♂	0	3,66
105	♀	0,1	3,3
90	♂	0,05	3
95	♀	0,12	5
100	♀	0,06	3,4

TAUX D'HASE. SANGUINE ET INTESTINALE CHEZ LE RAT SURRENALECTOMISE

TABLEAU N° 14

Poids	Sexe	sang de surrénale	Hase ($\mu\text{g}/\text{cm}^3/\text{h.}$)	
			Intestin	sang
102	♂	7	12	-
95	♂	7	14,5	1,25
90	♀	6	11,5	2
90	♀	6	15	1,1
92	♂	8	8,75	1
92	♂	5	10	1,3
105	♀	5	13,5	1,66
90	♂	5	17	1,55
95	♀	5	11	1,4

DISCUSSION

D'après ces résultats, on peut remarquer une augmentation du taux de l'hase. sanguine et intestinale chez le rat. Ce résultat est évidemment paradoxal, puisque les animaux surrénalectomisés sont, on le sait, particulièrement sensibles à l'action de l'hi., mais il ne faut pas oublier que, d'une part, nous n'avons envisagé que l'hase. présente dans la muqueuse intestinale, et que, d'autre part, l'inactivation de l'hi. ne résulte pas seulement d'un phénomène enzymatique, mais aussi d'un processus de fixation au niveau des protéines.

Peut-être pourrait-on donner une autre explication des faits observés, en tenant compte de l'effet que provoque la surrénalectomie sur l'intensité du métabolisme, et des échanges de liquide entre les humeurs et les tissus.

Ces facteurs pourraient empêcher la mobilisation de l'hase. intestinale vers le torrent circulatoire, en provoquant la rétention de cet enzyme dans l'intestin, et l'élévation du taux sanguin de l'histaminase serait une conséquence de l'hémoconcentration qui se manifeste à la suite de la surrénalectomie.

EFFET DE L'ADMINISTRATION D'HORMONES CORTICOIDES ET DE CORTICOSTIMULINE

Au cours de nos travaux nous avons eu à pratiquer sur l'animal des interventions (saignée, administration d'hi., surrénalectomie), qui ont pu déterminer

chez les sujets en expérience des modifications organiques que l'on groupe aujourd'hui sous le vocable "d'état de stress".

La réponse à ces "agents stressants" a consisté, dans la plupart de nos expériences, dans la variation de l'activité histaminasique du sang et des tissus.

Si l'on admet que cette réponse rentre dans le cadre de "Syndrome Général d'Adaptation", tel que le conçoit SELYE (1946), il est consécutif à la libération dans l'organisme de corticoestimulines, et, par voie de conséquence, d'hormone cortico-surrénales.

Notre travail se terminera par l'étude des variations que peut subir l'activité enzymatique des humeurs ou des tissus, après administration de ces différentes hormones. Au préalable, nous rappellerons ce qu'est le "Syndrome d'Adaptation".

D'après SELYE, c'est la somme des processus de défense non spécifique, mis en jeu par l'organisme quand il est attaqué par un agent d'agression quelconque. Ce syndrome d'adaptation se déroule selon deux processus principaux : un processus nerveux d'origine hypothalamique, et que nous ne faisons que citer, et un processus endocrinien qui se développe en deux stades.

STADE HYPOPHYSAIRE, l'agression d'un agent stressant de quelque importance oriente la sécrétion de l'antéhypophyse vers la production presque exclusive de cortico-stimuline (A. C. T. H.), en freinant celles d'autres stimulines

(gonadostimulines, somatotrophine). C'est cette hypersecrétion d'A. C. T. H. qui déclanche le deuxième stade : le Stade Surrénalien. Celui-ci est caractérisé par une hypersecrétion de deux groupes d'hormones corticales, les Gluco-corticoides et les Minéralo-corticoides.

Les hormones gluco-corticoides, dont la plus importante est la 17 dehydro-17 hydroxycorticostérone (cortisone), ont pour principal effet d'augmenter la néoglycogénèse, d'accélérer le catabolisme protéidique, la lyse de ganglions lymphatiques, l'activation du tissu recticulo endothelial, de déterminer une certaine éosinophilie..

On note également un rôle antiallergique et antihistaminique.

Les hormones Minéralo-corticoides, dont la principale est la desoxycorticostérone (DOCA), gouvernent le métabolisme des électrolytes: rétention de sodium et élimination de potassium. Elles agissent simultanément sur la fonction endocrine du rein, en déterminant la secrétion de substances rénales hypertensives (renine).

Notre but, dans cette dernière partie de notre travail a, donc, été d'étudier l'action sur le taux d'hnase organique des deux principales hormones élaborées par la corticosurrénale: la Cortisone et la desoxycorticostérone.

Nous comparerons, pour terminer, l'action de ces hormones à celle de la corticostimuline antehypophysaire (A. C. T. H.).

ACTION DE LA CORTISONE

Nous pratiquons une injection unique intra-péritonéale d'un quart de milligramme d'acétate de cortisone (Cortone Merck), en suspension aqueuse, chez des rats normaux ou surrénalectomisés.

Le dosage est pratiqué entre 3 et 5 heures après l'injection, délai considéré comme optimum par la plupart des auteurs.

Ce dosage se fait sur l'intestin grêle, prélevé immédiatement après le sacrifice de l'animal. Nous continuons avec la même technique employée pour doser l'hase, intestinale chez le rat surrénalectomisé (page 57). La dose d'hi. mise à incuber avec l'intestin a été de 25 μ g par gramme d'organe.

Parfois, nous avons effectué parallèlement des expériences semblables sur le sang de l'animal sacrifié par section des carotides. La quantité d'hi. en contact du sang a été de 2,5 à 5 μ g par cm^3 .

ACTION DE LA DESOXYCORTICOSTERONE

L'expérience est réalisée dans les mêmes conditions que pour la Cortisone (dose, hi. ajoutée, etc) en utilisant une solution huileuse de désoxycorticostérone.

ACTION DE LA CORTICOSTIMULINE (A. C. T. H.)

La dose d'A. C. T. H. injectée, par voie intrapéritonéale, est de 4 mmg. par rat.

Nous avons utilisé 4 échantillons d'A. C. T. H. différents : CORTROPHINE, ARMOUR, BYLA et BOUTY. Nous attendons

entre 3 et 5 heures avant de sacrifier l'animal. Tous nos résultats sont groupés dans les tableaux N° 15 et 16

TABLEAU N° 15

Hormone injectée	Poids	Sexe	Temps d'action (heures)	hase. $\mu\text{g}/\text{cm}^3/\text{h}$	
				intestin	sang
Cortisone (Cortone)	98	♀	4	3,3	0
"	105	♂	5	4	> 0,05
"	105	♂	5	5,3	0
Doca	87	♂	4	7	> 0,05
"	90	♂	5	4,8	> 0,05
A. C. T. H. (Cortrophine)	100	♂	3 1/2	7,5	1,5
"	105	♂	3 1/2	9	1,3
"	-	♀	5	10	1,3
A. C. T. H. (Armour)	85	♀	6	4	0,1
"	75	♂	6	5,5	0,07
"	90	-	4	2,25	0,05
A. C. T. H. (Byla)	-	♀	4	4,5	0,05
"	75	♂	4	2,7	0,08
A. C. T. H. (Bouty)	80	♀	5	3,33	> 0,05

HISTAMINASE ET CORTICOÏDES CHEZ LE RAT NORMAL

TABLEAU N° 16

Hormone	Poids	Sexe	Jours de surrén.	Temps d'ac- tion (heures)	Hase. (µg/cm ³ /h.)	
					intes- tin	sang
Cortisone (Cortone)	105	♀	7	5	4,5	0,05
"	90	♀	7	5	3,7	0,06
"	93	♂	6	4	3,9	> 0,05
"	90	♂	6	4	3	> 0,05
Doca	65	♂	7	4	6,8	0,8
"	70	♂	7	4	8,3	0,7
A. C. T. H. Cortrophine	75	♀	5	4	6	0,8
"	80	♀	5	5	10	0,6
A. C. T. H. Armour	80	♂	7	4	12	0,9
"	90	♂	7	5	14,5	1,3
A. C. T. H. Byla					12,5	1,7

HISTAMINASE ET CORTICOIDES CHEZ LE RAT SURRENALECTOMISE

DISCUSSION DE RESULTATS

Les résultats que nous avons obtenus, à savoir l'élévation du taux d'hase sanguine et intestinale chez les animaux surrénalectomisés, et le retour à la normale après l'injection d'hormones corticales, sont à rapprocher de ceux de CARSTEN, KAHLSON et WICKSELL obtenus sur la lymphe du chien, et de CARSTEN et WOOD sur la lymphe du chat. Ils apparaissent, par contre, en contradiction avec ceux de ROSE et de ses collaborateurs, concernant l'activité histaminolytique du poumon du rat. Notons également que les auteurs suédois n'ont pas constaté, chez les animaux surrenalectomisés, des modifications de l'activité antihistaminique du plasma.

Comment, dès lors, expliquer ce fait assez paradoxal, que la surrénalectomie puisse, à la fois, diminuer la résistance des animaux à l'hi., et augmenter le taux de hase sanguine et de l'intestin grêle, organe particulièrement riche en cet enzyme ?

Sans doute, comme nous l'avons déjà dit (VALETTE et HUIDOBRO 1951), les processus de destruction enzymatique de l'hi. ne constituent-ils pas les seuls moyens que possède l'organisme d'inactiver ce toxique. Certains organes, tels le foie et le rein sont, en effet, capables de fixer l'hi., alors que, chez le rat du moins, ils ne renferment pas d'hase.

Il reste, dès lors, à voir si, chez l'animal

décapsulé, ces processus d'inactivation sont en partie inhibés et si l'élévation du pouvoir histaminolytique ne traduit qu'une tentative inopérante de l'organisme animal vers l'inactivation d'une quantité anormalement élevée de toxique.

- o o o -

C H A P I T R E V

=====

L'HISTAMINASE DANS DIVERSES MANIFESTATIONS
PATHOLOGIQUES

Le rôle que de nombreux auteurs ont voulu faire jouer à l'hi. dans certaines manifestations pathologiques nous a amené à préciser la signification que pourraient avoir les variations du système hi.-hase. dans des maladies où l'hi. paraît intervenir.

Dans ce domaine nous avons étudié plus particulièrement les relations susceptibles d'exister entre l'hase d'une part, les maladies allergiques et l'éosinophilie d'autre part.

HISTAMINASE et ALLERGIE

Les rapports qui peuvent exister entre l'activité histaminolytique du sang et les manifestations allergiques ne sont pas encore clairement établies.

Ces états allergiques surviennent dans les conditions expérimentales et cliniques les plus diverses. Ils sont caractérisés par des symptômes assez variés, qui trouvent leur cause dans une hypersensibilité à un ou à plusieurs allergènes. Les réponses allergiques présentent des formes capricieuses pouvant affecter par exemple, soit la peau comme c'est le cas

dans l'urticaire, soit la pituitaire dans le rhume des foins. Cependant, une des formes les plus fréquentes et les plus nettes de l'atteinte allergique est, surment, l'hypercontractibilité des muscles bronchiques, phénomène qu'on retrouve dans la crise d'asthme.

C'est à ce dernier domaine que nous nous sommes particulièrement intéressé.

Plusieurs chercheurs ont étudié les variations du taux de l'histaminémie chez les malades asthmatiques. Les premiers travaux à ce sujet ont été publiés par CERQUA (1936). Cet auteur constate que le taux de l'hi. reste normal dans l'intervalle des crises (0,07 à 0,1 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$) mais s'élève pendant l'accès jusqu'à 0,2 à 0,3 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Le même auteur fait une constatation semblable dans un cas d'urticaire.

PARROT (1938), dans sa thèse, affirme que, non seulement l'activité histaminique s'élève considérablement au cours des accès d'asthme, mais encore, que l'injection d'hi. à un asthmatique peut déclencher une crise.

UNGAR (1939) remarque, lui aussi, une augmentation nette de l'histaminémie au cours de la crise d'asthme, dont il fait un phénomène d'ordre anaphylactique, avec libération d'hi. qui déclencherait le spasme bronchique. Cependant CURRY (1946) en injectant par voie intraveineuse à des sujets normaux, n'a jamais réussi à déclencher des manifestations d'allure asthmatique.

Quant à l'étude du rôle que peut jouer l'hase dans

l'asthme, elle n'a fait l'objet que d'un travail d'ANREP (1947).

Cet auteur, en étudiant 22 cas de manifestations allergiques, n'a jamais pu mettre en évidence une action histaminolytique appréciable dans le plasma de ces malades.

TRAVAUX PERSONNELS : (1)

Notre travail s'est borné, en général, à l'évaluation du pouvoir histaminolytique du sang des sujets asthmatiques. Parfois nous avons déterminé également l'histaminémie correspondante.

Dans le tableau n° I7 nous groupons les résultats obtenus dans 46 cas d'asthme d'étiologies diverses.

Le sang a été prélevé le matin à jeun par ponction veineuse au pli du coude, et les échantillons immédiatement traités en vue du dosage.

L'extraction a été effectuée d'abord, selon la méthode de CODE et ultérieurement selon la méthode simplifiée de DIAZ.

Il nous a paru intéressant de comparer d'une part l'activité histaminolytique du sang d'un sujet normal, à celle d'un sujet asthmatique, et, d'autre part, l'activité d'un sang asthmatique pendant et entre les crises. Nous rassemblons les résultats que nous avons obtenus dans les tableaux n° I8 et I9 et dans la courbe 3

(1) Nous remercions Mr. le Prof. TURIAF qui a eu l'aimable obligeance de mettre à notre disposition son Service de Consultation à l'Hôpital Cochin.

TABLEAU N°17

Nom du malade	Age	Age à sa 1 ^{ère} crise	Classe d'asthme	Hase. $\mu\text{g}/\text{cm}^3/\text{h}$	H1. $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	Méthode
Mme C.	41	5	Chronique	1,8	-	C.
Mme D.	50	46	Tardif	1	-	C.
M.P.	45	30	Saisonnier	1,8	0	C.
Mme F.	58	43	D'effort	1	-	C.
Mme T.	46	-	"	15	0	C.
Mme L.	48	30	Héréditaire	0,25	0	C.
M.H.	36	20	Coryza spas.	0	-	C.
Mme S.	64	62	Ménopause	0,2	0,05	C.
Mme B.	45	40	Recrud.Pre-menstr.	0,5	-	C.
M.B.	25	23	Dyspnéique	1	-	C.
Mme P.	52	-	"	0,45	-	C.
M.S.	53	-	D'effort	1,2	-	C.
M.C.	55	49	Saisonnier tardif	2	-	C.
M.M.	49	33	Allerg. au froid	0,5	0,66	C.
M.L.	67	20	Paroxyst.	0,9	0,9	C.
M.G.	72	-	D'effort chronique	1	-	C.
M.B.	43	-	Paroxyst.	4	-	D.
M.L.	50	48	D'effort	122	-	D.
Mme Ch.	54	35	-	0,75	-	D.
M.B.	59	-	Tardif	1	-	D.
Mme B.	20	-	Bronch. éosinoph.	0,8	-	D.
Mme B.	45	40	Recrud. prémenstr.	0,5	-	D.
Mme D.	32	-	Asth.parox.	> 0,05	-	D.
Mme H.	44	35	Saisonnier	0,5	-	D.
Mme I.	58	40	Ménopause	1,33	-	D.
Mme -	60	-	Tardif	0,8	0	D.
M.B.	15	5	Paroxyst.	> 0,05	0	D.
M. Ch.	32	-	Tardif	3	0,2	D.
M.B.	56	-	Chronique	0,8	0	D.
M.B.	33	-	Allerg. au froid	2	-	D.
M.B.	15	5	Paroxyst.	1,25	> 0,05	D.
M.D.	35	-	Paroxyst.	0,9	-	D.
Mme D.	43	12	Recrud. prémenstr.	> 0,05	-	D.
Mme N.	32	-	Paroxyst.	2	0	D.
Mme G.	40	12	Chronique	0,5	0,08	D.

HISTAMINASE DANS LE SANG DES MALADES ASTHMATIQUES

EN CRISE

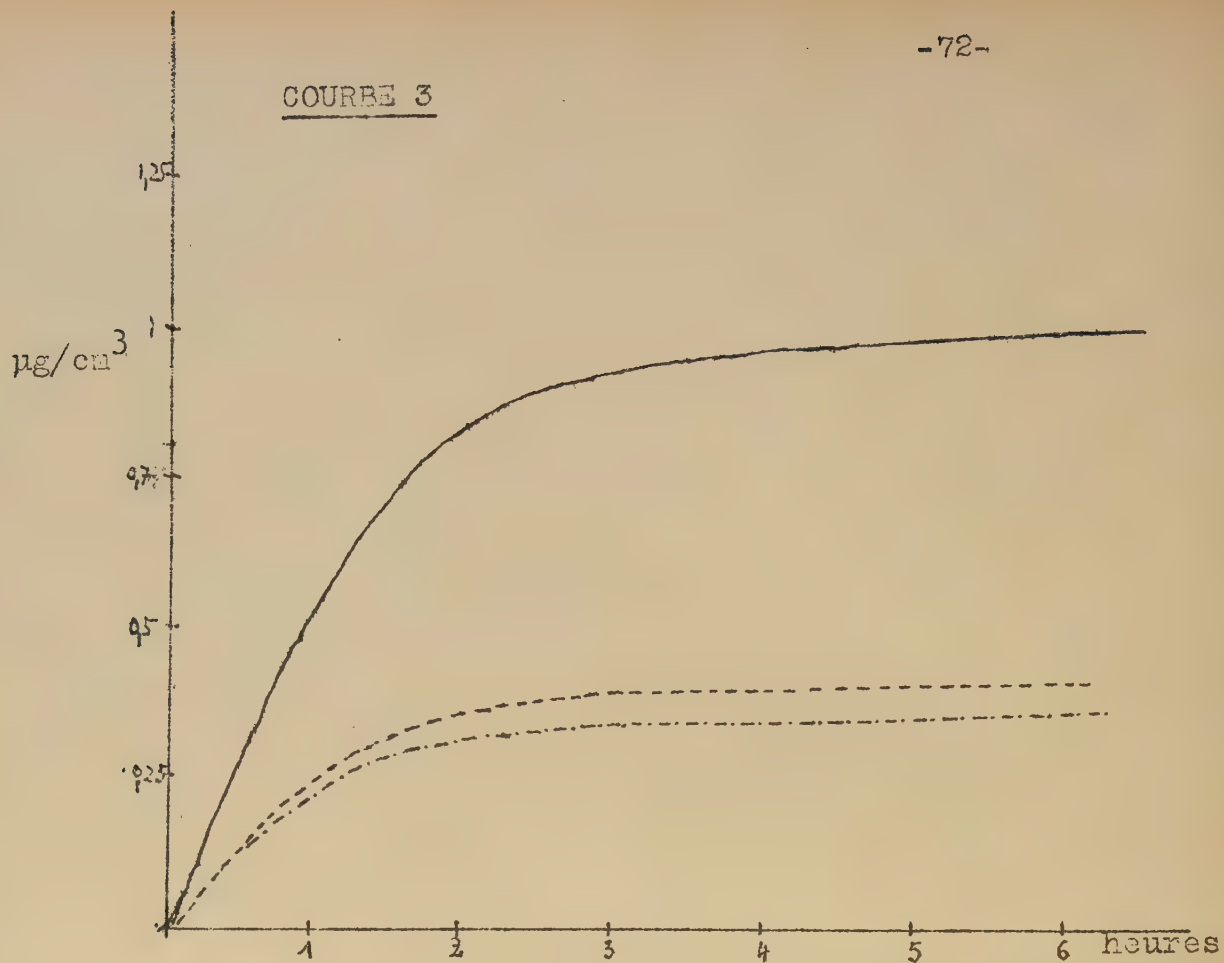
TABLEAU N° 18

N°	Nom	Age	Age à sa 1ère cri- se	Classe d'asthme	Hase. µg/cm ³ /h.	Méthode
1	M.B.	25	23	-	> 0,05	C.
2	M.M.	58	33	Gaz de guerre	> 0,05	C.
3	Mme L.	64	62	Chron.	0,8	C.
4	Mme P.	36	20	"	0,25	C.
5	Mme L.	54	-	"	0,06	C.
6	Mme B.	18	4	"	0,05	C.
7	M.C.	43	-	Crís. paroxíst.	0	D.
8	M.D.	47	-	Chron.	0,36	D.
9	M.G.	22	6	Paroxíst.	0	D.
10	M.B.	50	4	Asth. + Eczéma	> 0,05	D.

HISTAMINASE SANGUINE PENDANT ET DEHORS LA CRISE

TABLEAU N° 19

Nom	Age	Classe d'asth.	hase		Interv. entre les do- sages ("jours)
			crise	dehors	
M.B.	25	Dyspnéique	0,05	2	3
Mme L.	64	Chronique	0,08	1,2	6
Mme P.	52	Asth. avec cr. Paroxíst.	0,25	0,45	4
M.B.	43	Asth. avec cr. Paroxíst.	0	1,5	7

COURBE 3

HASE. DANS LE SANG NORMAL -.-.-.-.-

HASE. CHEZ L'ASTHMATIQUE EN CRISE -----

HASE. CHEZ L'ASTHMATIQUE EN DEHORS DES CRISES _____

De ces résultats nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

La plupart des malades présentent une histaminémie normale en dehors des accès; cette histaminémie s'accroît généralement à l'apparition de l'accident asthmatique, pour atteindre son maximum pendant l'accès. Toutefois, on ne peut établir un rapport entre le taux d'hi. et la sévérité de la crise. Parallèlement, le pouvoir histaminolytique diminue jusqu'à s'annuler, dans certains cas.

A la période de rémission, le taux d'hase se relève graduellement, et fini même par atteindre une valeur double ou triple du taux normal.

Ainsi pendant la crise d'asthme le taux de l'hi. et celui de l'hase. varient en sens inversé dans le sang des patients.

EOSINOPHILIE et HISTAMINASE

La signification de l'éosinophilie dans les maladies allergiques est encore discutée, et nous avons jugé intéressant d'établir les relations qui peuvent exister entre la teneur en hase., et le taux en éosinophile du sang circulant.

Dans les états allergiques, le taux sanguin des granulocytes et éosinophiles est très variable. En effet, nous avons pu observer, chez un même malade, de notables variations de l'éosinophilie d'un jour à l'autre.

Dans le service de Mr. le Professeur TURIAF, nous avons eu l'occasion d'examiner le sang de sujets dont la concentration en éosinophile variait entre 10 et 20%, quelques jours plus tard, les mêmes examens pratiqués chez les mêmes patients, donnaient des résultats tout à fait normaux.

Selon TURNER (1948), l'éosinophilie serait un effet et non une cause des états allergiques.

Il nous a été donné d'étudier un cas d'éosinophi-

lie consécutif à une helminthiase intestinale, ou le taux d'éosinophiles atteignait 51%. Ceux-ci étaient morphologiquement normaux, condition indispensable pour que la détermination de leur pouvoir histaminasique soit valable (PARROT et GABE 1945).

Les éléments blancs ont été isolés selon la technique déjà décrite dans le chapitre III qui, bien que d'efficacité médiocre pour l'isolement convenable de plaquettes, nous a cependant, donné satisfaction pour l'obtention d'une suspension suffisamment riche en éosinophiles.

Chaque échantillon a fait l'objet d'un examen préalable du point de vue morphologique et l'activité enzymatique a été déterminée selon notre méthode directe. La dose d'hi. dans la suspension leucocytaire a été de 2 à 4 μg par cm^3 .

Nous donnons dans le tableau n° 18 les résultats obtenus avec le sang de 7 malades atteints de diverses affections.

TABLEAU N° 18 - HISTAMINASE DANS L'EOSINOPHILIE

Nom	Maladie	% éosin. (sang)	% éosin. suspension	hase. $\mu\text{g}/\text{cm}^3/\text{h}$	hase. (sang)
M.B.	Helminthiase	51	82	2,66	-
M.R.	Asthm. chron.	19	47	2	0,8
M.C.	Asthm. chron.	-	44	1,2	0,75
M.C.	Asthm. spasm.	22	75	1,5	0,9
Mme D.	Renitis chro.	16	60	1,05	1
Mme G.	Asthm. chron.	9	40	0,8	-
M.L.	Asthm. saisonnier	16	52	1,25	0,25

En examinant ces chiffres, nous pouvons constater qu'une éosinophilie importante est toujours accompagnée d'une activité histaminasique sensiblement élevée.

Doit-on imputer à l'éosinophilie l'hyperproduction d'hase.? Cette hypothèse pourrait être fondée, mais , comment la concilier avec les faits que l'activité histaminolytique du sang disparaît au cours de la crise d'asthme proprement dite, alors que le taux d'éosinophiles demeure toujours élevé?

D'après PARROT et GABÉ (1945), les éosinophiles seraient les cellules qui, parmi les éléments globulaires, contiennent la plus forte quantité d'hi. Ce fait pourrait expliquer l'augmentation du taux de l'hi. souvent rencontrée dans les malades allergiques.

Cependant, on ne peut dire si l'accroissement du taux sanguin de l'hase. est corrélatif ~~de~~ l'accroissement du nombre d'éosinophiles, ou si les deux phénomènes ne découlent pas d'une même cause, qui reste, bien entendu, à élucider.

CONCLUSION GENERALE

Nous nous sommes proposé au cours de ce travail, d'étudier la teneur en histaminase du sang et des tissus dans différentes conditions physiologiques et pathologiques.

En premier lieu, nous avons repris, à la lumière des travaux précédents, la question du dosage biologique de l'histamine, et de l'extraction de cette substance à partir du sang et des tissus.

Nous avons ensuite appliqué ce dosage à l'étude de la teneur en histaminase du sang chez l'homme et les différentes espèces animales. Nous avons alors constaté que l'histaminase est plus abondante dans le sang total que dans le plasma, et plus abondante dans ce dernier liquide que dans le sérum.

Cette constatation nous a conduit à considérer le pouvoir histaminolytique des différents éléments figurés du sang. Nous avons alors observé que l'histaminase est présente exclusivement dans les plaquettes; ces éléments se montrent dépourvus d'histamine comme les hématies, alors que les leucocytes contiennent une quantité appréciable de cette amine.

Nous avons ensuite abordé l'étude de l'influence qu'exercent sur le taux sanguin de l'histaminase certains facteurs physiologiques tels que la saignée, la surcharge des tissus en histamine, et la grossesse.

La saignée massive des animaux n'a pas déterminé d'augmentation constante du taux d'histaminase. Les administrations répétées d'histamine au cobaye, soit par voie pulmonaire, soit par voie intra-péritonéale ne se sont pas montrées efficaces sur la production d'histamine. Par contre, en confirmation des résultats de MARCOU et d'AHLMARK, nous avons constaté l'élévation très importante du taux histaminasique du sang au cours de la grossesse, fait imputable à l'élaboration placentaire de cet enzyme.

Nous avons ensuite considéré le rôle des cortico-surrénales dans la production de l'histaminase, et constaté que, contrairement à ce que l'on pouvait présumer, la surrénalectomie totale, détermine chez le Rat une élévation de l'activité histaminasique du sang et de l'intestin; l'injection d'hormones cortico-surrénales (cortisone et desoxycorticostérone) aux animaux décapsulés, ramène à un chiffre voisin de la normale le taux enzymatique du sang et de l'intestin.

Dans un dernier chapitre, nous nous sommes intéressés à l'influence de certaines causes pathologiques sur le pouvoir histaminolytique du sang. Nous avons vu que, dans l'asthme, il survient une élévation du taux d'histaminase sanguine, mais perceptible seulement dans l'intervalle des crises; pendant la crise, au contraire, le taux d'histaminase décroît alors que l'histaminémie augmente.

De tous les faits consignés, il résulte que l'élaboration de l'histaminase par l'organisme peut constituer dans certains cas, un moyen de défense contre les effets possibles de l'histamine, mais que, conformément à l'opinion généralement admise aujourd'hui, la destruction enzymatique de l'histamine ne représente que l'une des possibilités dont dispose l'organisme pour inactiver ce toxique.

-oOo-

VU, le Doyen : VU, le-Président:

R. FABRE

G. VALETTE

VU et PERMIS D'IMPRIMER

Le Recteur de l'Académie de Paris

Jean SARRAILH

BIBLIOGRAPHIE

- AHLMARK A. - Acta Physiol. Scand. 1944, 9, suppl. 28.
 AKERBLUM E. - Acta Physiol. Scand. 1941, 2, p. 378.
 ANREP G.V., BARSOUM G.S. et A. IBRAHIM. - Journ. of Physiol. 1947, 106, p. 379.
 BARSOUM G.S.-Clin.Sci. 1936, 2 p.338.
 BARSOUM et GADDUM J.H. - Journ. of Physiol. 1935, 85, p. 114.
 BEST C.H. - Journ. of Physiol. 1929, 67, p. 256.
 BEST C.H. et MAC HENRY E.W. - Journ. of Physiol. 1930, 70, p. 349.
 BIDWOOD E.J., COGNIAUX P. et COLLORD R.-C.R.Soc.Biol. 1924, 91, p. 118.
 BLASCHKO H. - Journ.of Physiol. , 1938, 93, p.7.
 BOVET D. et STAUB A.M. - C.R.Soc.Biol. 1937, 124, p. 547.
 CARLSTEN A., KAHLSON G. et WICKSELL F. - Acta Physiol. Scand. 1949, 17, N° 4, p. 370.
 CARLSTEN A. et WOOD D.R. - Journ. of Physiol. 112, p. 142.
 CERQUA S. - Minerva Medica, 1936, 14, N° 23, p. 542.
 CODE C.E-Journ. of Physiol. 1937, 90, p. 349 et 485.
 CURRY J.J. - Journ. of Clin. Invest. 1946, 25, p. 785.
 DALE H.H. et LAIDLAN P.P. - Journ. of Physiol. 1910, 41, p. 1179.
 DIAZ C.J. et ARJONA E. et PERIANES J. - Rev. Clin.Esp. 1948, 31, p. 29-34.
 DRAGSTED C.A., MEAD F.B., EYER S.W., Journ.Pharmacol. 1938, 63, p. 400.
 EUSTIS A.C. - Biochem.Bull. 1915, 4, p. 97-9.
 FELDBERG W. et SCHILD E., Histamin, Seine Pharmakologie Berlin 1930.
 FIESSINGER N., GAJDOS A., PANAYOTOPOULOS E. - Bull. Soc. Med.Hop.Paris 1939, 1, p. 500.
 GOTTERMAN J.M. et PERLA D. 1931, Proc.Soc.Exp.Biol.and Med, 28, p. 1022.
 GRANDJEAN L.C., Acta Pharmacol. et Toxicol. 1949, 5, p. 45.
 GUGGENHEIM M. et LOFFLER W. - Biochem.Zeitschr. 1916, 72, p. 313.
 HALPERN B.N. - Arch.Inter.Pharmacod. 1942, 68, p. 339.
 HOSOYA K. - Arch.Exptl.Path.Pharmakol. 1931, 159, p. 41-6
 HUGUES D.E., SALVIN E. et WOOD D.R. - Journ. of Physiol. 1951, 113, p. 218-227.
 KAPELLER-ADLER R. - Biochem. Journ. 1949, Vol.44, p. 70.
 KAPELLER-ADLER R. - Biochem. Journ. 1951, Vol. 48, p. 99.
 KARADY S., ROSE B. et BROWNE J.S.L. - Amer. Journ. Physiol., 1940, 130, p. 539.
 KEETON R.W., KOCH F.C. et LUCKHARDT. - Amer. Journ. Physiol., 1920, 51, p. 454.
 LA BARRE J. - C.R.Soc.Biol., 1926, 48, p. 779.

- LASKOSKI M.G. - Journ. of Biol. Chem. 1942, 145, p. 457.
 MAC GREGOR R.G. et PEAT S. - Journ. of Physiol., 1933,
 77, p. 310.
 MAC HENRY E.W. et GABIN G. - Trans. Roy. Soc. Canada,
 1931, 25, p. 101.
 MARCOU I., et col. - Press. Méd., 1938, 46, p. 371.
 MARCOU I. - C.R.Soc.Biol. 1939, 130 p.573.
 MANWARING W.H., HOSEPIAN V.M., ENRIGHT J.R. et PORTER D.R.
 Journ of Immunol., 1925, 10, p. 567.
 MAUPIN B. - Le Sang, 1950, 21, p.76.
 MINARD D. - Amer. Journ. Physiol., 1941, 132, p. 327.
 PARROT J.J.L. - Thèse doct. méd. Paris, 1938, Baillière.
 PARROT J.J.L. et GABE M. - C.R. Soc. Biol. 1945, 139,
 p. 965.
 ROCHA e SILVA. - Journ. of Pharmacol., 1943, 77, p. 198.
 ROSE B. ET BROWNE J.S.L. - Amer. Journ. Physiol., 1938,
 124, p. 412.
 ROSE B. et KARADY S. - Amer.Journ.Physiol., 1939, 126 p.614.
 SCHWARTZ A. et RIEGERT A. - C.R.Soc.Biol.1936,123, p. 801.
 SELYE H. - Journ. Clin. Endocrinol, 1946,6, p. 117.
 STEPHENSON N.R. - Journ.Biol.Chem., 1943, 149, p. 169.
 SWANBERG H. - Acta Physiol. Scand. Vol.23,Suppl.79, 1950,
 SWEDIN B. - Acta Méd. Scand., 1943, 114, p. 210.
 THOMAS P. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1920, 2, p. 176.
 TURNER S. - Brit. Méd. Journ., 1948, p. 1051.
 UNGAR G. - Paris 1937, Hermann et Cie.
 UNGAR G. - Thèse doct. Méd. Paris, 1939.
 UNGAR G. et PARROT J.J.L. - C.R. Ac. Sc., 1939, 208,p.598
 VALETTE G. et CAVIER R. - C.R. Soc. Biol., 1949, 143,p.1463
 VALETTE G. et MAUPIN et HUIDOBRO H. - C.R. Soc.Biol. 1951,
 145, p. 313.
 VALETTE G. et HUIDOBRO H. - C.R. Soc. Biol.1952,Séan.8.3(ss/r.)
 VANDENDRIESSCHE R. et JAWORSKI. - C.R. Soc. Biol., 1949,
 143. p. 1289-90.
 WERLE E. - Biochem.Zeitschr., 1940, 304, p.201.
 WHITBY L. et BRITTON C.J.C. - Disorders of Blood, 9° édit.
 1950, p. 161.
 WICKSELL F. - Acta Physiol. Scand. 1949, 17, p. 395.
 ZELLER A. et Eilbacher S. - Helv.Chim.Acta. 1937,20,p.17.
 ZELLER E.A. - Helv.Chim.Acta, 1938(a),21, p.83.
 ZELLER E.A. - Helv.Chim.Acta, 1938(b),21, p. 1645.
 ZELLER E.A. - Helv.Chim.Acta, 1940, 23, p. 1418.
 ZON L. et CEDER E.T. - Pub.Healt Repts. 1939, 54, p. 1978.

